

**Untersuchungen zur genetischen Variabilität
im haplo-diploiden System der
Honigbiene (*Apis mellifica*):
Isoenzyme, Entwicklungshomeostasis und
physiologische Homeostasis**

Dorothea Brückner

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551923_0068

Untersuchungen zur genetischen Variabilität im haplo-diploiden
System der Honigbiene (*Apis mellifica*): Isoenzyme,
Entwicklungshomeostasis und physiologische Homeostasis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Dorothea Brückner
aus Kempten

1975

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Jacobs

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Renner

Tag der mündlichen Prüfung: 26.2.1975



Herrn Prof. Dr. J. Jacobs möchte ich für die Anleitung zu dieser Arbeit und die anregenden Diskussionen danken, sowie Herrn Prof. Dr. F. Ruttner für die freundliche Überlassung des Bienenmaterials und die Ermöglichung eines mehrwöchigen Arbeitsaufenthaltes im Institut für Bienenkunde in Oberursel bei Frankfurt.

Inhalt

- I. Gemeinsame Zusammenfassung
- II. Reduction of Biochemical Polymorphisms in Honeybees
(*Apis mellifica*)
- III. The Influence of Genetic Variability on Wing Symmetry
in Honeybees (*Apis mellifica*)
- IV. Die Abhängigkeit der Temperaturregulierung von der
genetischen Variabilität der Honigbiene (*Apis mellifica*)

Gemeinsame Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit besteht aus verschiedenen Untersuchungen zur genetischen Variabilität im haplo-diploiden System der Honigbiene (*Apis mellifica*). Mit drei Methoden wurde der Frage nachgegangen, inwieweit das Ausmaß an genetischer Variabilität bei haplo-diploiden Arten dem bei diploiden Arten entspricht. Die Tatsache, daß ein Teil der Population im haplo-diploiden System stets nur den halben Chromosomensatz besitzt, könnte zu einer Verringerung der genetischen Variabilität führen. Bei der Honigbiene sind die Drohnen hemizygot; alle Gene dieser Individuen sind der Selektion ausgesetzt, weil es keine heterozygoten Loci gibt, bei denen zum Beispiel durch Dominanz eines Allels rezessive Eigenschaften verdeckt werden könnten. Bei den Drohnen können aufgrund der Hemizygotie auch heterotische Effekte nicht zur Wirkung kommen. Aus diesen Gründen ist eine Verringerung der genetischen Variabilität in den Populationen wahrscheinlich. Ausserdem stellt sich die Frage, inwieweit sich Heterosis-Mechanismen im haplo-diploiden System entwickeln können, da sie doch nur in den heterozygoten Individuen zur Wirkung kommen können. Zu diesen beiden Fragestellungen wurden Untersuchungen durchgeführt.

Isoenzymuntersuchungen sollten über das Ausmaß an genetischer Variabilität Aufschluß geben. Als Versuchsmaterial dienten vier verschiedene Rassen der Honigbiene (*Apis m. carnica*, *Apis m. ligustica*, *Apis m. caucasica*, *Apis m. fasciata*). Bei Drohnen und Arbeiterinnen wurden mithilfe der Zellulose-Azetat-Elektro-

phorese drei Enzyme (Malat-Dehydrogenase, Phospho-gluco-mutase und Esterase) auf Polymorphismen hin untersucht. Alle drei Enzyme sind von zahlreichen diploiden Arten als polymorph bekannt; bei der Honigbiene konnten jedoch keine Polymorphismen für diese Enzyme entdeckt werden. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß, was diese Loci betrifft, in der Tat bei der Honigbiene eine Reduktion der genetischen Variabilität vorliegt. Neben den oben erwähnten Gründen kann die folgende Tatsache als Erklärung dienen: Die Bienenvölker sind in der Lage, in den Stöcken relativ konstante Umweltbedingungen zu schaffen, was zweifellos die Fixierung optimaler Enzyme in den Populationen begünstigt.

Zur Klärung der Frage nach den heterotischen Mechanismen bei der Biene wurden Untersuchungen zur individuellen Homeostasis durchgeführt. Homeostasis ist die Fähigkeit der Individuen, Störungen zu widerstehen bzw. sie durch eine gewisse Pufferungskapazität zu korrigieren. Bei diploiden Organismen steht diese Fähigkeit unter dem Einfluß der Heterozygotie der Tiere; Homeostasis kann somit als ein wichtiger heterotischer Mechanismus aufgefaßt werden. Da bei der Honigbiene nur die Weibchen (Arbeiterinnen und Königinnen) heterozygot sind, würden die Drohnen keine Homeostasis besitzen, wenn diese Fähigkeit ganz von der Heterozygotie der Individuen abhängen würde. Um die Frage zu klären, wie homeostatische Mechanismen im haplo-diploiden System gesteuert werden, wurden Untersuchungen zur Entwicklungshomeostasis und physiologischen Homeostasis unternommen. Als Versuchsmaterial dienten Arbeiterinnen und Drohnen von *Apis mellifica carnica*. Ein Teil der Arbeiterinnen besaß einen hohen Grad an

Homozygotie, der durch künstliche Besamung der Königinnen erreicht worden war (Inzuchtkoeffizienten von 50%, 75% und 87,5%). Ingezüchtete Arbeiterinnen, normal heterozygote Arbeiterinnen und hemizygote Drohnen wurden auf ihre Entwicklungshomeostasis hin untersucht. Als Merkmal für die Entwicklungshomeostasis diente die Flügelsymmetrie der Individuen. Bei Merkmalen, für die Konstanz von adaptivem Wert ist, kann die Variabilität des Merkmals als Indikator der Homeostasis des Individuums dienen. Symmetrische Flügel sind für Drohnen sowie für Arbeiterinnen von größter Wichtigkeit; die Arbeiterinnen müssen beträchtliche Flugleistungen erbringen, um Futter für die Kolonie heranzuschaffen, und die Drohnen, um die Drohnensammelplätze zu erreichen. Die Differenzen zwischen rechten und linken Flügeln wurden für drei Merkmale (zwei Messungen am Geäder der Vorderflügel und die Anzahl der Häkchen am Hinterflügel) berechnet. Die Varianz der Differenzen wird in dieser Arbeit als Maß für die intra-individuelle Variabilität benutzt; die interindividuelle Variabilität wurde aus den linken Flügeln berechnet.

Die heterozygoten Arbeiterinnen waren intraindividuell weniger variabel als die ingezüchteten Arbeiterinnen und die hemizygoten Drohnen. Ein Austauschexperiment ergab, daß die gefundenen Unterschiede nicht auf unterschiedliche Umweltbedingungen in den Stöcken der Inzucht- und Nicht-Inzuchtkolonien zurückgeführt werden können, sondern auf die genetischen Unterschiede der Individuen zurückgeführt werden müssen. Beim Vergleich zwischen inter- und intraindividueller Variabilität stellte sich heraus, daß heterozygote Arbeiterinnen interindividuell gleich variabel

oder variabler waren als Arbeiterinnen mit hohem Homozygotiegrad, während sie intraindividuell weniger variabel waren als letztere. Heterozygote Arbeiterinnen besitzen also in der Tat größere homeostatische Fähigkeiten als Arbeiterinnen mit hohem Homozygotiegrad und hemizygote Drohnen: Das Prinzip der homeostatischen Pufferung durch Heterozygotie wurde im haplo-diploiden System der Honigbiene nicht aufgegeben.

Die physiologische Homeostasis der Bienen wurde am Merkmal der Thermoregulation untersucht. Es ist bekannt, daß die Bienen in der Lage sind, die Temperatur im Stock außerordentlich gut zu regulieren. Die Fähigkeit der Temperaturregulierung ist ein lebensnotwendiges Merkmal für das Bienenvolk, einerseits um eine normale Entwicklung der Larven zu gewährleisten, andererseits um die kalten Winter unserer Breiten überstehen zu können.

Als Versuchsmaterial dienten normal heterozygote Völker sowie ingezüchtete Völker mit hohem Homozygotiegrad (Inzuchtkoeffizient gleich 87,5%). Es wurden Messungen an intakten Völkern im Freien sowie an Gruppen von je 50 gekäfigten Arbeiterinnen bei 15°C, 20°C, 22°C und 25°C durchgeführt. Dabei konnte gezeigt werden, daß normal heterozygote Arbeiterinnen ingezüchteten Arbeiterinnen in ihrer Fähigkeit zur Temperaturregulierung überlegen sind. Die Nicht-Inzuchtvölker erreichten im zeitigen Frühjahr bei schwankenden Umgebungstemperaturen im Brutnest signifikant höhere Temperaturen als die Inzuchtvölker und konnten diese auch stabiler halten. Bei den Versuchen mit den gekäfigten Bienen zeigten die Nicht-Inzuchtarbeiterinnen stets größere Heizleistungen als die Inzuchtarbeiterinnen. Außerdem konnte gezeigt werden, daß die Überlebens-

chance der Nicht-Inzuchtbienen im Kältestreß größer ist als die der Inzuchtbienen. Die schlechtere Temperaturregulierung der Inzuchtarbeiterinnen wird darauf zurückgeführt, daß der hohe Homozygotiegrad der Tiere das innere Gleichgewicht (physiologische Homeostasis) so stört, daß die Mechanismen der Temperaturregulierung nicht mehr wie bei normal heterozygoten Tieren funktionieren. Von den Inzuchtarbeiterinnen wird zum Beispiel unter gleichen Bedingungen weniger Stoffwechselwärme erzeugt als von den Nicht-Inzuchtarbeiterinnen.

*

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen muß man schließen, daß eine Reduktion der genetischen Variabilität im haplo-diploiden System der Biene bei den Isoenzymen vorliegt, daß aber dennoch die homeostatischen Mechanismen bei der Biene wie bei diploiden Arten von der Heterozygotie der Individuen abhängig sind. Diese Ergebnisse deuten auf zu einem gewissen Grade entgegengesetzte Tendenzen hin, die wohl durch die unterschiedlichen Bedingungen im haplo-diploiden System entstanden sind: Einerseits werden durch die Hemizygotie der Drohnen alle Gene unmittelbar der Selektion ausgesetzt, ohne daß Dominanz oder heterotische Mechanismen zur Wirkung kommen können; andererseits sind die Vorteile der Heterozygotie, die durch Heterosis zustande kommen, sehr groß. Es muß angenommen werden, daß die Vorteile, die Arbeiterinnen und Königinnen durch heterotische Mechanismen besitzen, so groß sind, daß dieses Prinzip nicht aufgegeben wird. Beide Tendenzen können nebeneinander bestehen, indem bei verschiedenen Merkmalen entweder die eine oder die andere zur Wirkung kommt.

Eine Veröffentlichung der Arbeit in drei Teilen bietet sich vom Inhalt her an. Der erste Teil über die Isoenzymuntersuchungen, wurde bereits veröffentlicht, und zwar in englischer Sprache, da zahlreiche Isoenzymuntersuchungen an diploiden Organismen im englischsprachigen Raum (vorwiegend in den USA) gemacht wurden. Dieser Leserkreis wird also vorrangig Interesse an den Ergebnissen der Enzymuntersuchungen haben.

Der zweite Teil, die Untersuchungen zur Entwicklungshomeostasis, soll ebenfalls in englischer Sprache veröffentlicht werden, denn auch auf diesem Gebiet wird praktisch nur im englischsprachigen Raum gearbeitet.

Der dritte Teil, die Untersuchungen zur physiologischen Homeostasis, soll in deutscher Sprache veröffentlicht werden. In diesem Teil steht das Inzuchtproblem bei der Biene im Vordergrund; das Temperaturregulierungsvermögen ist das erste quantitative Merkmal, für das eine Schwäche bei Inzuchtvölkern nachgewiesen werden konnte; die Ergebnisse haben somit auch praktische Bedeutung. Die Inzucht bei der Honigbiene, durch künstliche Besamung oder auf Belegstellen, ist ein aktuelles Thema der Bienenforschung, an dem zur Zeit in Deutschland wie auch in den USA viel gearbeitet wird.

Reduction of Biochemical Polymorphisms in Honeybees (*Apis mellifica*)

For several years electrophoresis has been extensively used for the study of isozyme polymorphisms in many different organisms. A great number of polymorphic loci has been detected in different animals throughout the animal kingdom. The study of biochemical polymorphisms in honeybees (*Apis mellifica*) presented here, was to determine if their genetic system of parthenogenesis has an impact on the percentage of polymorphic loci present in the population. The enzymes malate dehydrogenase (MDH), phosphoglucumutase (PGM) and esterase were tested. They are known to be polymorphic in other species^{1, 5}

For electrophoresis tissue extracts were made of entire thorax muscles (MDH, PGM) from individual workers and drones. Thorax muscles of workers were homogenized in 0.2 ml of distilled water, of drones in 0.5 ml of distilled water and then centrifuged at 30,000 *g* for 20 min. The

clear supernatant material, which had a protein content of 25 mg/ml, was used for electrophoresis on cellulose acetate strips (8 × 8 cm). Haemolymph samples were taken from the dorsal vessel of individual bees and used directly for electrophoretic separation of esterase. Electrophoresis was carried out for all enzymes in a Shannon Universal apparatus at +5°C.

Malate dehydrogenase — 5 µl of the tissue extract were applied to the gel-strips and electrophoresis was conducted at 8 mA/240 V for 30 min using a 0.1 *M* veronal-Na buffer (pH 8.4). For enzyme detection, the strips were incubated in the dark at 37°C in a solution of 0.2 *M* DL malic acid, 0.001 *M* DPN, 0.000163 *M* phenazine methosulfate, 0.00043 *M* NB-tetrazolium and 0.05 *M* tris (pH 7.0). For the reaction mechanism, see BREWER⁶.

Phosphoglucumutase — 5 µl of the tissue extract were applied to the strips and electrophoresis performed at 7 mA/100 V for 80 min using a 0.1 *M* tris-maleic acid buffer (pH 7.6). For staining the strips were incubated at 37°C in the dark in a solution of 0.0046 *M* glucose-1-phosphate, 0.01 *M* MgCl₂, 0.0012 *M* TPN, 0.00033 *M* phenazine methosulphate, 0.00024 *M* MTT-tetrazolium, 0.075 mg G-6-PD/100 ml staining solution and 0.03 *M* tris (pH 8.0).

Esterase — 3 µl of haemolymph were applied to the strips and electrophoresis performed at 7 mA/150 V for 30 min using a 0.3 *M* boric acid buffer (pH 8.0). For enzyme detection the strips were incubated at room temperature in the following staining mixture: 0.006 *M* α-naphthyl acetate, 200 mg Blue RR salt/100 ml staining solution and 0.08 *M* tris (pH 7.0)⁶.

Bees from 14 different hives were studied, including 4 different races of *Apis mellifica* (see Table). All bees proved to be monomorphic for the 3 enzymes, showing the same banding pattern in workers and drones of all colonies: 1 band of enzyme activity was detected for

Reduction of biochemical polymorphisms in honeybees (*Apis mellifica*)

Colonies		Enzymes					
		PGM		MDH		Esterase	
<i>A. mellifera carnica</i>							
from Frankfurt hives	1	24 W	24 D	12 W	12 D	12 W	12 D
	2	13 W		11 W		16 W	7 D
	3	54 W	52 D	21 W	17 D		
	4	12 W	12 D	12 W	12 D	27 W	36 D
from Munich hives	5	22 W	24 D	22 W	24 D	21 W	9 D
	6	61 W	55 D	12 W	12 D	12 W	12 D
	7			12 W		10 W	
	8	10 W		6 W			
	9			12 W			
	10			12 W			
	11	6 W		5 W			
<i>A. mellifera ligustica</i>							
	12	12 W		12 W		12 W	
<i>A. mellifera caucasica</i>							
	13	12 W		12 W		9 W	
<i>A. mellifera lasiocota</i>							
	14	12 W		12 W		10 W	

W, workers; D, drones.

¹ R. C. LEWONTIN and J. L. HUBBY, *Genetics* 31, 577 (1966).

² R. K. SELANDER, Univ. of Texas, Publ. No. 6918 Sept. (1969).

³ R. K. KOHN and J. R. MITTON, *Am. Nat.* 106, 47 (1972).

⁴ F. M. UTTER and H. O. HODGINS, *Comp. Biochem. Physiol.* 36, 195 (1970).

⁵ I. E. LUSH, *Comp. Biochem. Physiol.* 30, 391 (1969).

⁶ G. J. BREWER, *An Introduction to Isozyme Techniques* (Academic Press, New York 1970), p. 67, 87.

MDH and esterase, 2 bands for PGM. This result was not to be expected considering the frequent electrophoretic variants of enzymes found in other organisms.

If compared to other species, there seem to be fewer polymorphic loci in the honeybee. What may be the explanation for this reduction? It is known that parthenogenetic reproduction should generally lead to a reduction of genetic variability. However, the enzymes of the parthenogenetically reproducing *Daphnia magna* have been shown to be as polymorphic as those of other species⁷. Honeybees, on the other hand, have a special parthenogenetic system with heterozygous workers and hemizygous drones (in *Daphnia* males are diploid). The fact that all genes are under selection in the males has to lead to a reduction in variability. Also, one of the advantages of polymorphism, namely the heterotic effect, is lost for part of the population.

Another reason for the reduction could be constancy of the environment, for bees regulate the temperature extremely well within the hive and also the feeding of the larvae. But it has been shown that animals living in presumably constant environments, like deep-sea animals and coralreef clams, have the same amount of polymorphic loci as other species^{8,9}. Therefore it seems likely that the heterozygous-hemizygous system of hon-

eybees, enforced by constant, well regulated conditions during development, and adult life is necessary to produce the observed absence in isozyme polymorphisms.

Zusammenfassung. Elektrophoretische Untersuchungen zum Enzympolymorphismus der Honigbiene (*Apis mellifica*) ergaben, dass alle untersuchten Individuen, Tiere aus 4 Rassen, monomorph für Malatdehydrogenase, Esterase und Phosphoglucumutase waren.

DOROTHEA BRÜCKNER

Zoologisches Institut der Universität, Seidlstrasse 25,
D-8 München 2 (Federal Republic of Germany),
23 October 1973.

⁷ P. D. N. HERBERT, R. D. WARD and J. B. GIBSON, *Genet. Res.*, Cambridge 19, 173 (1972).

⁸ F. J. AYALA, D. HEDGECOCK, G. S. ZUMWALT and J. W. VALENTINE, *Evolution* 27, 177 (1973).

⁹ J. L. GOOCH and T. J. M. SCHOFF, *Evolution* 26, 545 (1972).

¹⁰ I wish to thank Prof. RUTTNER (Frankfurt) for providing some of the bee material.

The Influence of Genetic Variability on Wing Symmetry in
Honeybees (*Apis mellifica*)

Table of Contents

	page
1. Introduction.....	1
2. Material and Methods.....	5
3. Results.....	9
Intraindividual Variability.....	9
Exchange Experiment.....	11
Interindividual Variability.....	14
4. Discussion.....	16
5. Summary.....	19
6. Literature Cited.....	22

Introduction

The study was undertaken to show whether developmental homeostasis is linked with heterozygosity in organisms with haplo-diploid systems. Developmental homeostasis is defined in its broadest sense as the ability of individuals to resist disturbances during their development by reacting in a buffered way (Lerner 1954). Disturbances during the development of an individual will be reflected in morphological variation of the adult; homeostatic abilities will lead to a reduction of such variation. This study deals with developmental homeostasis in honeybees as expressed in their adult body symmetry.

It has been found, that heterozygous individuals are in general superior in their homeostatic ability to homozygous individuals. Lewontin (1956) found for example that *Drosophila* from lines which were made homozygous for different second chromosomes showed less correlation in abdominal bristle number between the 4th and 5th sternites than flies from heterozygous lines. The fact that the anterior-posterior gradient in bristle number was better expressed in the heterozygous individuals was interpreted as being due to their superior buffering ability during their development. The interactions of genes and alleles in the heterozygous genomes are thought to improve this buffering ability, i. e. the homeostatic development of the individuals. Lewontin found that the heterozygous flies had higher average adaptive values over a range of environments than the homozygous flies. He concluded that homozygous flies might occasionally be better

in one special environment but that they are inferior to heterozygous individuals over an array of environments. The relative importance of special coadapted systems versus general heterosis is not known yet.

Former research on homeostasis has been done on diploid organisms only, mainly on *Drosophila* (Dobzhansky and Levene 1955, Lewontin 1956 and 1958, Lerner 1954, Thoday 1953). This study deals with homeostasis in a haplo-diploid system to find out if the improvement of homeostasis due to heterozygosity is also present in a species where part of the population has only half the diploid chromosome set. The honeybee was chosen because it has such a system: all males (the drones) are hemizygous, developing from unfertilized eggs and all females (the workers and queens) are heterozygous, developing from fertilized eggs. Since it is possible to artificially inseminate the queens, one can get workers with different degrees of homozygosity. It should be mentioned here that it is impossible to get completely homozygous workers because of the sex-determining mechanism in honeybees: there is no X or Y chromosome but a series of multiple alleles at one locus that determine the sex - if it is heterozygous, workers or queens will develop; if it is homozygous or hemizygous, drones will develop (Mackensen 1951). Diploid drones do not exist in normal colonies, because they are removed by the workers in early stages of their development. However, in the laboratory it has been shown that drones will develop from diploid eggs in which the sex-locus is homozygous (Woyke 1956).

Individual homeostasis can be shown by an organism in its developmental paths (developmental homeostasis) as well as in its physiology (physiological homeostasis). This paper deals with morphogenetic traits for which drones, inbred workers and non-inbred workers were compared. A second paper deals with a physiological trait (thermoregulation), for which the comparison is made between inbred and non-inbred colonies.

Constancy of a character can be used as a measure of homeostasis, but only, as pointed out by Lewontin (1956), if a character is chosen for which constancy is adaptive. There are several reasons why lack of variability per se does not necessarily indicate homeostasis: variability itself can be of adaptive value in some cases, or else it can be argued that in any system, where a certain factor is kept constant, other factors have to be variable to enable this constancy; depending on which factor is chosen, both, constancy and variability can then (the latter indirectly) indicate homeostasis. Symmetry of wing in honeybees was chosen as a character to be measured because bilateral symmetry is of utmost importance to flying insects like honeybees. Workers as well as drones often have to fly long distances, the former to collect food for the colony and the latter to reach the congregation areas where they mate with the queens. It has been shown by Louis (1970), that the specific pattern of the veins in the honeybee wing is under strong selection.

A former study on isozymes in honeybees showed that there was no polymorphism for the three enzymes under investigation (Malate dehydrogenase, Phosphoglucumutase, Esterase). The study

was done on drones and workers of 4 different races of honeybees (Brückner 1973b). The isozymes which were investigated are known to be polymorphic in many diploid organisms. The fact that no polymorphisms were found in honeybees was interpreted as being due to the haplo-diploidy of the bees: the hemizyosity of the drones leads to a reduction of genetic variability in the populations, because all genes are under selection in the males and heterotic mechanisms cannot develop under hemizygous conditions. Furthermore, the workers are able to create rather stable conditions in the hives which might allow optimal enzymes to become fixed in the populations. A lack of isozyme polymorphisms is in general interpreted as being representative of an overall lack of variability in the genome. The lack of isozyme polymorphisms found in the honeybee would then indicate that heterosis is not the expected mechanism to increase or insure homeostasis.

The present study was undertaken to show the impact of the haplo-diploid system on the homeostatic properties of honeybees. The question was asked if developmental homeostasis in honeybees is linked with heterozygosity in spite of the hemizyosity of the drones. If developmental homeostasis is linked with heterozygosity will highly homozygous workers show the same intraindividual variability as the drones or do homeostatic traits behave differently in hemizygous as compared to highly homozygous individuals? Preliminary studies on developmental homeostasis, as measured by wing symmetry in drones and workers, yielded the following results: the intraindividual variability which was calculated from the differences between right and left wings, was larger

in drones than in workers; highly homozygous workers were more variable than normally heterozygous workers (Brückner 1973a). However, since inbred and non-inbred colonies were not related, the possibility could not be excluded, that the differences found were due to genetic composition rather than degree of homozygosity. In order to exclude this, the following study was done with related bees only; also the previous results were extended to other genetic strains.

Material and Methods

Workers and drones of inbred and non-inbred colonies of *Apis mellifica carnica* were compared. Inbreeding coefficients (F) of 50%, 75% and 87.5% were achieved in the workers by artificial insemination of the queens (Drescher 1969). The percentages of the inbreeding coefficients are equal to the degree of homozygosity of the workers. Figure 1 shows the type of inbreeding that was done and the relationship of non-inbred and inbred colonies. To exclude the difference in genetic variability which is due to difference in origin rather than degree of inbreeding, the study was done with related bees only. The queens and their colonies are always given the same numbers. Samples of 50 young workers and drones were taken from the colonies and killed with CO₂. Drones were available from some of the colonies only (as indicated by asterisk in fig. 1).

An exchange experiment was undertaken to determine which effects the differences in environmental variability between inbred and

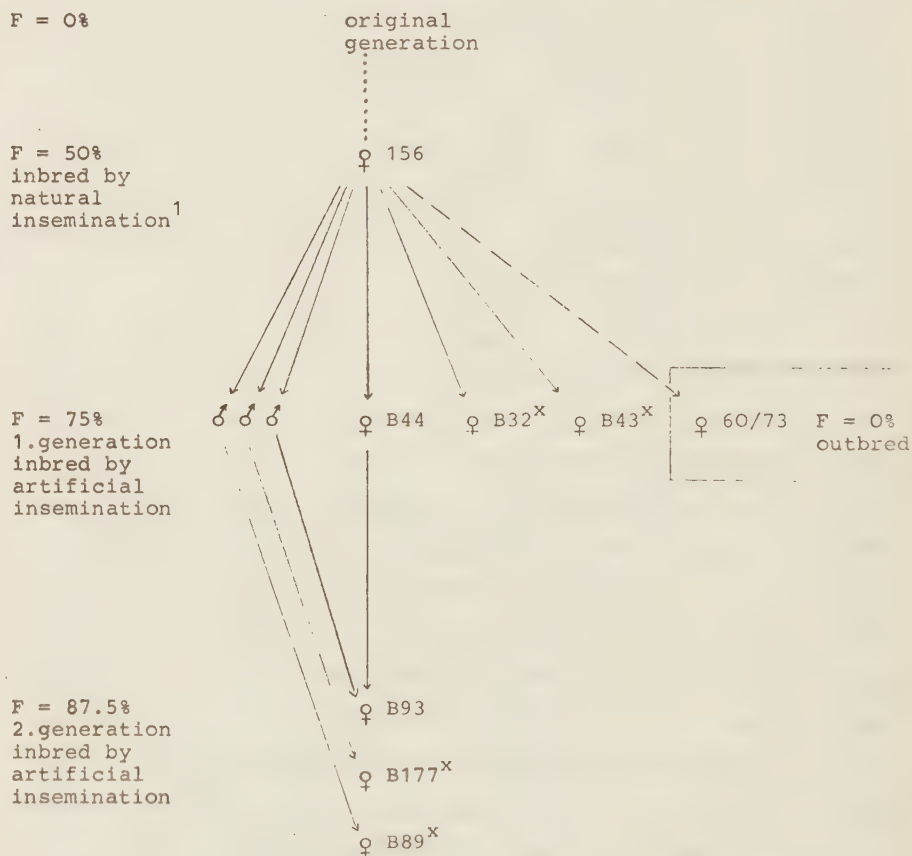


Fig. 1 Type of inbreeding and inbreeding coefficient (F)

^x colonies of which drones were available

¹ There was a sequence of matings of queens and related drones (natural insemination) between the original generation and queen 156, to reach an inbreeding coefficient of 50%.

and non-inbred colonies during the development of the bees might have on the intraindividual variability of the adult bees. Frames with empty comb were put into a colony and removed three days after the queen had laid her eggs into the cells. The frames were then brought to a "host colony" where the larvae were raised. (The comb had been built in a strange colony.) One day before emergence of the workers from the covered cells the frames were taken out of the colonies to an incubator which was set at 35°C. After emergence the workers were collected and killed three days later. In this manner, workers of an inbred queen (B177) were raised in the colony of a non-inbred queen (60/73) and vice versa (workers of 60/73 were raised in colony B93).

To allow exact measurements, forewings and hindwings of each individual were mounted on slides. The number of hamuli was counted on the hindwings and two veinlength-measurements (a and d) were made on the forewings (fig. 2). Character d is taken as a measure of the length of the wing whereas character a is taken as a measure of the width of the wing. Measurements of total length or width were not made, thus avoiding measurement errors due to worn wings or unequal amputation of the wings. The measurements were made with an optical micrometer mounted on a dissecting microscope at 25 X magnification.

The differences between right and left wing measurements were calculated for all three characters of each individual. They were standardized by dividing them by the mean value of each character in order to allow comparisons between the workers and

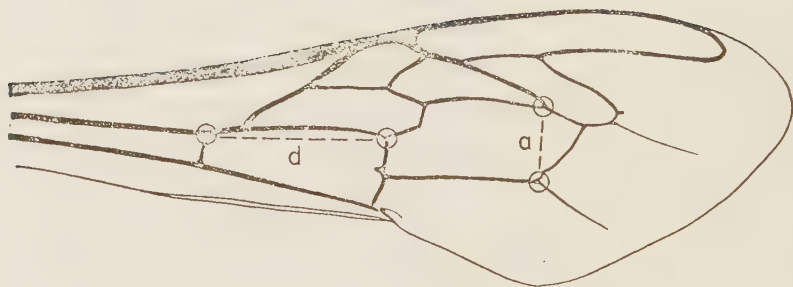


Fig. 2 Right forewing showing the veinlength measurements
a and d.

the drones, the latter being larger in size. The standardized values were added for the three characters since the trend of their variances was similar; one variance value was calculated for each sample. These variances were taken as a measure of the intraindividual variability of the bees. It has been shown by Ruttner (1952) that the right and the left wings of workers and drones are highly correlated. If there were no differences at all between right and left wings, a variance value of zero would result. Consequently the larger the variance values, the greater the differences.

For interindividual variability the standardized measurements of the left wings only were used. It is known, that there is no difference in interindividual variability between right and left wings of honeybees (Ruttner 1952). The variances were then calculated.

In the statistical analysis of the results, all differences are called significant that are under 5% probability.

Results

Intraindividual Variability

Drones and workers of four different colonies were compared; the drones always had higher intraindividual variances than the workers, with one exception significantly so (Tab. 1). Studies on other unrelated colonies have shown similar results (Brückner 1973a). Thus the generalization seems justified that drones always have higher intraindividual variability i. e. less homeostatic abilities

Colonies	s_W^2	s_D^2	p
B32 (F=75%)	0.00178	0.0031	<0.01
B43 (F=75%)	0.00181	0.00192	>0.05
B177 (F=87.5%)	0.00176	0.00484	<0.01
B89 (F=87.5%)	0.00168	0.00218	<0.05

Tab. 1 Intraindividual variability of workers (W) and drones (D) and the probability (p) that s_W^2 and s_D^2 belong to the same statistical populations.

than workers. Non-inbred workers always prove to have significantly smaller variances than their inbred relatives (Tab. 2). Since differences due to origin can be excluded, the greater variability of inbred workers must be due to their high degrees of homozygosity.

With the colonies available it was not possible to demonstrate a significant increase of intraindividual variability with increasing degree of homozygosity.

If the drones are compared to those workers that have the highest degree of homozygosity, they still prove to be more variable (see tab. 1, values of B177 and B89).

From these results the following can be concluded about intra-individual variability:



1. Heterozygous workers are less variable than workers with high degrees of homozygosity.
2. Workers with high degree of homozygosity are less variable than hemizygous drones.

Exchange Experiment

Since phenotypic variability is influenced by two components: genetic variability and environmental variability, it could be argued that the differences found in intraindividual variability between inbred and non-inbred bees are due to the environmental differences between the colonies and not to differences in developmental homeostasis. There are indeed differences between

Inbred Colonies	s_W^2	p
156 (F=50%)	0.00183	< 0.05
B32 (F=75%)	0.00178	< 0.05
B43 (F=75%)	0.00181	< 0.05
B44 (F=75%)	0.00178	< 0.05
B93 (F=87.5%)	0.00218	< 0.01
B177 (F=87.5%)	0.00176	< 0.05
B89 (F=87.5%)	0.00168	< 0.05

Tab. 2 Intraindividual variability of workers (s_W^2) from inbred colonies and the probability (p) that these workers and non-inbred workers from colony 60/73, the variance value (s^2) of which is 0.00133, belong to the same statistical populations.

the colonies of inbred and non-inbred bees: for example the broodnest temperature in early spring is lower and less stable in inbred colonies than in non-inbred colonies (Brückner 1974). To determine the influence of environmental disturbances on the characters measured, exchange experiments were undertaken in which inbred workers were raised in a non-inbred colony and vice versa. It should be mentioned here that there are environmental differences of two kinds: the differences between colonies and the differences within colonies. With the exchange experiments it was possible to determine if the environmental differences between the colonies caused the differences found in intraindividual variability. The within-colony differences cannot be excluded experimentally since completely uniform conditions can never be created in an intact colony. For this study though, newly emerged bees were always taken from the central frames of the colonies (center of the broodnest); this should minimize the differences between bees that are due to within-colony differences.

The inbred workers of colony B177 which had a variance value of $s^2 = 0.00176$ in their own colony had an almost identical value of $s^2 = 0.00175$ when raised in the non-inbred colony 60/73, whereas the non-inbred workers of colony 60/73 when raised in the same (their own) colony had a significantly smaller variance value than the inbred workers ($s^2 = 0.00133$). When the non-inbred workers (60/73) were raised in the inbred colony B93, they had a variance value of $s^2 = 0.00129$, while the workers of their "host-colony" had a significantly larger variance value of $s^2 = 0.00218$.

These results show that the inbred workers have a high variance value regardless of the colony in which they were raised, and that the non-inbred workers always have a significantly lower value. This proves that the differences in intraindividual variances between inbred and non-inbred workers are due to the differences in genetic variability of the individuals; highly homozygous workers have poorer homeostatic abilities than heterozygous workers. This conclusion must be correct unless one supposes that the first three days of development have the main influence on the final size and structure of the wings of the adult bees (the first three days the frames stayed in the colonies of the queens which had layed the eggs, then they were transferred to the "host-colonies"). But since the larval development of the workers lasts 21 days, it is highly unlikely that the first three days should have a major influence on the final development of the wings.

Interindividual Variability

Drones are interindividually more variable than workers, which was also found by other authors (Castell and Phillips 1903) and is expected from the theory of polygenic inheritance (see Eickwort 1969). The interindividual variability of heterozygous workers is either not significantly different from that of highly homozygous workers or, if significantly different, the heterozygous individuals are always more variable: when all possible pair-combinations were made between inbred and non-inbred workers, the latter proved to be significantly more variable in 24% of the cases. Heterozygous workers are expected to be more variable interindividually than highly homozygous individuals because

they possess more genetic variability. That drones are more variable than workers in spite of their hemizygoty can be explained by the fact, that no dominance effect can hide any variation in these individuals and that there is, in general, a lack of genetic interactions in hemizygous genomes.

No trend of increase or decrease in interindividual variability is found with increasing degree of homozygosity in the workers. From these results the following can be concluded about interindividual variability:

s_D^2 hemizygous  s_W^2 heterozygous  s_W^2 highly homozygous

1. Hemizygous drones are more variable than workers.
2. Heterozygous workers are equally or more variable than highly homozygous workers.

Interindividual variability and intraindividual variability of workers and drones were compared. Drones have a higher inter- and intraindividual variability than workers. Heterozygous workers are equally or more variable interindividually but less variable intraindividually than highly homozygous workers. If one would suppose that inter- and intraindividual variability were linked somehow, they should show the same trend; these results indicate, however, that they are not linked: interindividual and intraindividual variability are partly opposing in the case of heterozygous and homozygous workers. The same relation of intra- to interindividual variability between inbred and non-inbred workers was found in a former study in which unrelated colonies were compared (Brückner 1973a).

Discussion

The variability in wingsymmetry of honeybees is taken as a measure of their developmental homeostasis. Heterozygous workers hemizygous drones, and inbred workers with high degrees of homozygosity were compared to find out if homeostasis is linked with heterozygosity in organisms which have a haplo-diploid system. Individuals with homeostatic development possess buffering abilities that allow the development of a certain phenotype despite disturbing forces. These disturbances might be internal or environmental in origin. It was found that the hemizygous drones and the highly homozygous workers were more variable intraindividually than related heterozygous workers. In the exchange experiments heterozygous workers did not become intraindividually more variable when raised in a colony of highly homozygous workers and highly homozygous workers did not become more symmetrical in their wings when raised in a colony of normally heterozygous workers. From these results it can be concluded, that the environmental differences between the colonies did not cause the differences in intraindividual variability found between inbred and non-inbred workers. Environmental differences between the colonies have been shown in the study on physiological homeostasis, in which it was found that there is a difference in thermoregulation between inbred and non-inbred colonies (Brückner 1974). The former reach lower absolute temperatures in the broodnest and keep the temperatures less stable than the latter. One could argue that the environmental differences between the colonies are not relevant for the developmental homeostasis of the workers, but that

with the results of the isozyme investigation where the lack of biochemical polymorphisms in three enzymes indicated, that the conditions in bee hives are non-fluctuating and stable enough to allow optimal enzymes to become fixed in the populations (Brückner 1973b). But on the other hand the results of the investigations on isozymes and developmental homeostasis are somewhat opposing: a reduction of polymorphisms was found in isozymes but also it was shown, that heterozygosity has an important function for heterotic mechanisms in honeybees. From this it can be concluded, that the variability found for isozymes is not necessarily representative of the overall variability in the genome. It seems as if both tendencies, that of the reduction of variability and that of the enforcement of heterozygosity can coexist in haplo-diploid species. For honeybee populations, it might be optimal to have monomorphic enzymes in the constant conditions in the hives, but heterozygosity must be of importance too, first to maintain the homeostatic properties of the workers, and second to allow the possibility of reaction to unpredictable larger changes of the environment.

Summary

The developmental homeostasis of honeybee workers and drones (*Apis mellifica*) were compared. Homeostasis is defined in its broadest sense as the ability of an individual to resist disturbances. This resistance is achieved by a certain buffering capacity. From the literature it is known, that in diploid systems heterozygous individuals have better homeostatic abilities than

homozygous individuals. This study was undertaken to show if homeostasis is linked with heterozygosity in haplo-diploid systems.

The developmental homeostasis was measured by the wing symmetry of the bees. The intraindividual variability was calculated from the differences between right and left wings (three characters were measured). The interindividual variability was calculated from the left wings. Normally heterozygous workers, highly homozygous workers and drones were compared. The highly homozygous workers had different degrees of homozygosity which were achieved by artificial insemination of the queens (50%, 75%, and 87.5%).

The heterozygous workers proved to be less variable intraindividually than the related highly homozygous workers and the hemizygous drones. An exchange experiment showed that these differences were not due to the environmental differences between the hives of inbred and non-inbred colonies but must be caused by differences in homeostatic ability - the heterozygous individuals being superior to the highly homozygous individuals. A comparison between inter- and intraindividual variability showed that the heterozygous workers were equally or more variable interindividually than the inbred workers, but intraindividually they were less variable than the latter. The hemizygous drones were always more variable than the workers.

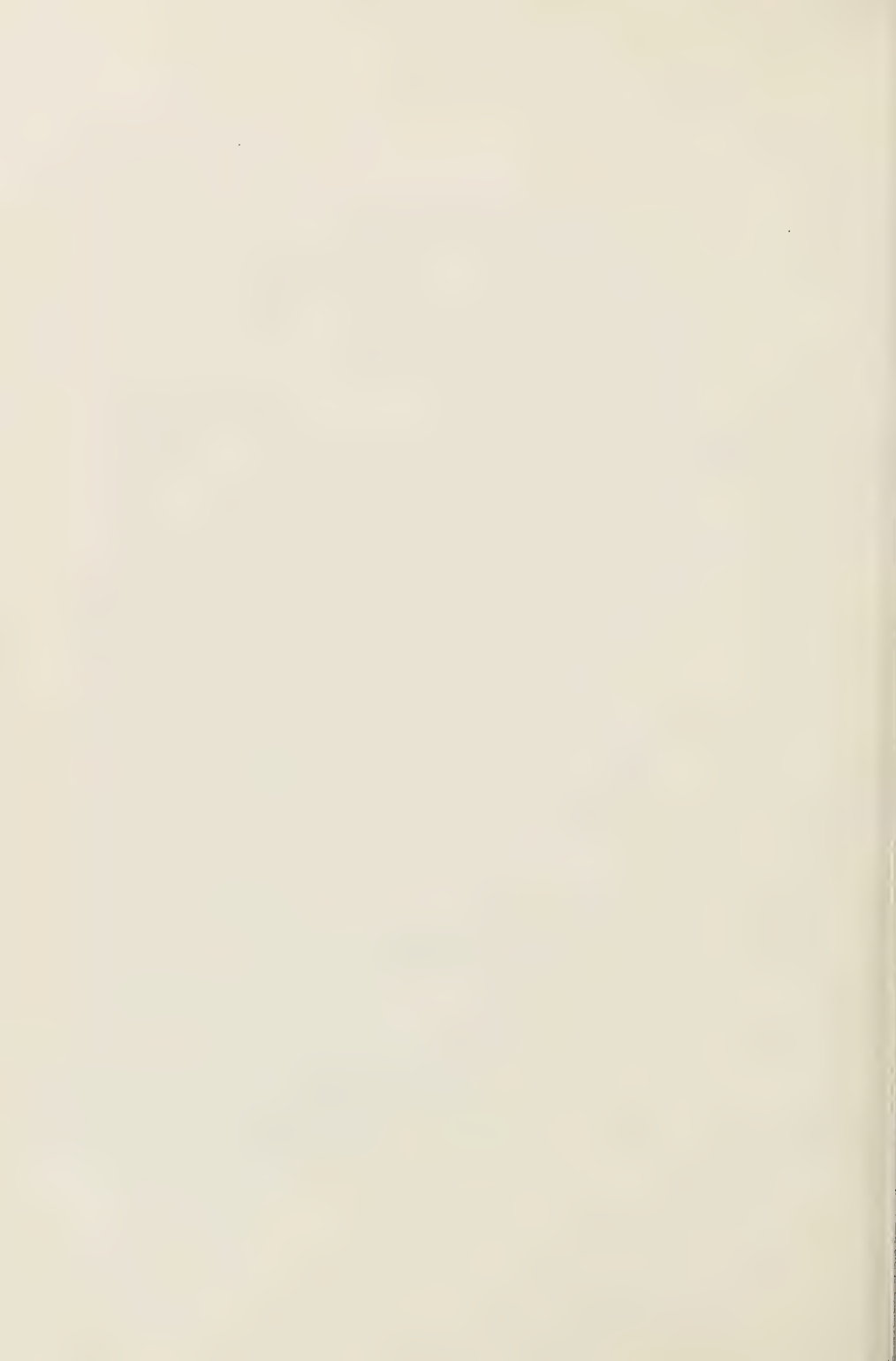
These results show that homeostasis is improved by heterozygosity in the haplo-diploid system. The discussion considers the possibility of the existence of a special homeostatic system in drones, effective with half the diploid chromosome set, versus the effect

of the environmental stability provided in the hive by the workers. Workers regulate the conditions in the hive to a great extent which might render a special homeostatic system in the drones unnecessary.

Literature Cited

- Brückner, D. 1973a. Homeostasis in honeybees (Apis m. carnica).
Die Naturwiss. 60(9):433-434.
- 1973b. Reduction of biochemical polymorphisms in
honeybees (Apis mellifica). Experientia 30:618-619.
- 1974. Die Abhängigkeit der Temperaturregulierung von
der genetischen Variabilität der Honigbiene (Apis m. carnica).
(in preparation)
- Casteel, D.B., and E.F. Phillips. 1903. Comparative variability of
drones and workers of the honeybee. Biol. Bull. 6:18-37.
- Dobzhansky, Th., and H. Levene. 1955. Genetics of natural populations
XXIV. Developmental homeostasis in natural populations of
Drosophila pseudoobscura. Genetics 40:797-808.
- Drescher, W. 1969. in: Die instrumentelle Besamung der Bienenkönigin.
ed.: F. Ruttner. Apimondia: 58-61.
- Eickwort, K.R. 1969. Differential variation of males and females in
Polistes exclamans. Evol. 23:391-405.
- Lerner, I.M. 1954. Genetic Homeostasis. New York, John Wiley.
- Lewontin, R.C. 1956. Studies on homeostasis and heterozygosity 1.
General considerations. Abdominal bristle number in second
chromosome homozygotes of Drosophila melanogaster. Am. Nat. 90(853):
237-255.
- 1958. Studies on homeostasis and heterozygosity II.
Loss of heterosis in a constant environment. Evol. 12:494-503.
- Louis, J. 1970. Etude sur les ailes des hyménoptère II. L'aile de
l'abeille domestique (Apis mellifica L.). Apidologie 1(3):309-328.
- Mackensen, O. 1951. Viability and sex-determination in the honeybee
(Apis mellifera L.). Genetics 36(5):500-509.
- Ruttner, F. 1952. Zur Dyssymmetrie des Flügelgeäders der Honigbiene.
Z.f. Bienenfor. 1:1-6.
- Thoday, J.M. 1953. Components of fitness. Symp. Soc. Exp. Biol. 7:96-113.
- Woyke, J. 1965. Genetic proof of the origin of drones from the ferti-
lized eggs of the honeybee. J. Apic. Res. 4(1):7-11.

Die Abhängigkeit der Temperaturregulierung von der genetischen
Variabilität der Honigbiene (*Apis mellifica*)



Inhalt

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material	4
3. Methode	6
4. Ergebnisse	10
Temperaturmessungen in den Völkern	10
Temperaturmessungen in den Kästchenversuchen .	15
Versuche zum Kältestreß	23
5. Diskussion	26
6. Zusammenfassung	31
7. Abstract	33
8. Literaturverzeichnis	34



Einleitung

Die Fähigkeit zur Temperaturregulierung liegt unter den sozialen Insekten bei der Honigbiene (*Apis mellifica*) am besten ausgeprägt vor. Die als Individuen weitgehend von der Umgebungstemperatur abhängigen Tiere besitzen als Volk ein gut ausgeprägtes Temperaturregulierungsvermögen, das in seiner Leistung dem homiothermer Lebewesen nicht nachsteht. So ist bekannt, daß Bienenvölker ganz extremen Temperaturschwankungen in ihrer Umwelt zu widerstehen vermögen und in der Lage sind, die Temperatur des Brutnestes stets bei etwa 35 °C zu halten. Dieser Fähigkeit liegt ein Regelkreis zugrunde, in dem ein bestimmter Temperatursollwert gegenüber störenden Außenfaktoren aufrechterhalten wird (Wilson 1971): Setzt man ein Volk unter experimentellen Bedingungen der Kälte aus, so wird vermehrt Stoffwechselwärme von den Individuen erzeugt. Diese Wärme wird bei gleichbleibend niedriger Umgebungstemperatur dadurch erhalten, daß das Bienenvolk eine Traube bildet. Die Traube kann sich je nach Temperatur stärker oder schwächer um das Brutnest zusammenziehen; je stärker sie zusammengezogen ist, desto geringer ist die der Kälte ausgesetzte Oberfläche und es bildet sich gewissermaßen eine lebende Decke von Bienen im äußeren Bereich der Kugel, durch die kalte Luft am Eindringen ins Zentrum der Kugel gehindert wird (Gates 1914, Himmer 1932). Bei Überhitzung setzt erhöhtes Flügelfächeln ein, das der Zirkulation der Luft im Stock dient und den Austausch von Luft durch das Flugloch beschleunigt. Als weiteres Mittel wird die Verdunstungskälte ausgenutzt, indem die Bienen Wassertröpfchen

in den Stock eintragen und sie, als dünne Schicht ausgebreitet, in den Zellen verdunsten lassen (Lindauer 1954). Einige von der Biene eingesetzte Mechanismen sind somit ähnlich denen homoiothermer Lebewesen. Diese erreichen bei großer Kälte z.B. durch Muskelzittern eine Erhöhung der Abgabe an Stoffwechselwärme, während bei großer Hitze durch Schweißabgabe ebenfalls die Verdunstungskälte ausgenutzt wird um abzukühlen.

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit behandeln nur die kältebedingten Reaktionen der Bienen. Das Temperaturregulierungsvermögen der Honigbiene beruht einerseits auf Reaktionen der einzelnen Individuen, andererseits auf Reaktionen des Kollektivs aller Tiere. Bei der Temperaturregulierung, die bei niedrigen Umgebungstemperaturen einsetzt, wird z. B. vom Individuum die Stoffwechselwärmeabgabe erhöht, während durch das Zusammenwirken aller Tiere die Traubenbildung zustande kommt.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Frage, ob und inwieweit das Temperaturregulierungsvermögen der Bienen, als Ausdruck der physiologischen Homeostasis, von der Heterozygotie der Arbeiterinnen abhängig ist. Von diploiden Arten ist bekannt, daß die Heterozygotie der Tiere eine große Rolle für die homeostatischen Mechanismen der Tiere spielt (Lerner 1954). Im haplo-diploiden System bringen homeostatische Mechanismen, die an Heterozygotie gebunden sind, jedoch nur dem diploiden Teil der Population einen Vorteil. Es wäre daher denkbar, daß die Homeostasis in haplo-diploiden Systemen nicht an Heterozygotie gebunden ist.

Mit Untersuchungen an Isoenzymen konnte gezeigt werden, daß bei

der Honigbiene eine Reduktion der genetischen Variabilität in den Populationen vorliegt. Bei Arbeiterinnen und Drohnen von vier verschiedenen Rassen der Honigbiene wurden drei Enzyme auf Polymorphismen hin untersucht (Malat-Dehydrogenase, Phosphogluco-mutase und Esterase). Von zahlreichen diploiden Arten sind die untersuchten Enzyme als polymorph bekannt, bei der Biene konnten jedoch keine Polymorphismen nachgewiesen werden (Brückner 1973a). Diese Reduktion der genetischen Variabilität kann darauf zurückgeführt werden, daß im hemizygoten Chromosomensatz der Drohnen alle Gene der Selektion ausgesetzt sind und sich keine heterotischen Mechanismen ausbilden können. Die Fixierung optimaler Enzyme wird zudem durch die relativ konstanten Umweltbedingungen im Stock begünstigt.

Untersuchungen zur Homeostasis der Biene haben andererseits gezeigt, daß die Entwicklungshomeostasis der Individuen auch im haplo-diploiden System an die Heterozygotie der Tiere gebunden ist (Brückner 1974). Als Maß für die Entwicklungshomeostasis diene die Flügelsymmetrie der Individuen. Störungen während der Ontogenese führen zu erhöhter morphologischer Variabilität des adulten Tieres; durch homeostatische Mechanismen wird diese Variabilität reduziert. Die Konstanz eines Merkmals kann als Maß für Homeostasis genommen werden, sofern die Konstanz für das Merkmal von adaptivem Wert ist (Lewontin 1956). Symmetrische Flügel sind von größter Wichtigkeit für Arbeiterinnen und Drohnen; die Arbeiterinnen müssen große Flugleistungen erbringen, um Futter für die Kolonie zu suchen, und die Drohnen, um die Drohnensammelplätze zu erreichen. Die Differenz zwischen rechten und linken

Flügeln wurde aus Messungen an drei morphogenetischen Merkmalen für Arbeiterinnen und Drohnen berechnet. Es stellte sich heraus, daß Arbeiterinnen, deren genetische Variabilität durch Inzucht stark verringert war, in ihrer Flügelsymmetrie variabler waren als verwandte nicht-ingezüchtete Arbeiterinnen; die Drohnen waren stets variabler als die Arbeiterinnen (Brückner 1974). Mit demselben Versuchsmaterial, sowie anderen Inzucht- und Nicht-Inzuchtivölkern, wurde in der vorliegenden Arbeit getestet, inwieweit sich auch in der physiologischen Homeostasis Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nachweisen lassen.

Material

Als Versuchsmaterial dienten ingezüchtete und nicht-ingezüchtete Völker von *Apis mellifica carnica*, von denen einige eng verwandt waren, während andere unterschiedlichen Linien entstammten. Insgesamt wurde mit 14 Inzucht- und 9 Nicht-Inzuchtivölkern gearbeitet. Die Art der Inzucht für die verwandten Völker ist in Abb. 1 wiedergegeben (die Königinnen und ihre Völker wurden jeweils gleich bezeichnet). Alle in den Versuchen getesteten Inzuchtivölker waren mithilfe der künstlichen Besamung in der zweiten Generation ingezüchtet. Nach dieser Art der Inzucht rechnet man bei den Völkern mit einem Inzuchtkoeffizienten F von 87,5% (Drescher 1969); der Inzuchtkoeffizient entspricht dem Homozygotiegrad der Tiere. Da der Locus der Sexallele stets heterozygot sein muß, um Arbeiterinnen entstehen zu lassen, können bei der Honigbiene keine völlig homozygoten Linien hergestellt werden (Mackensen 1951, Woyke 1965). Die Nicht-Inzuchttiere stammten von Völkern,

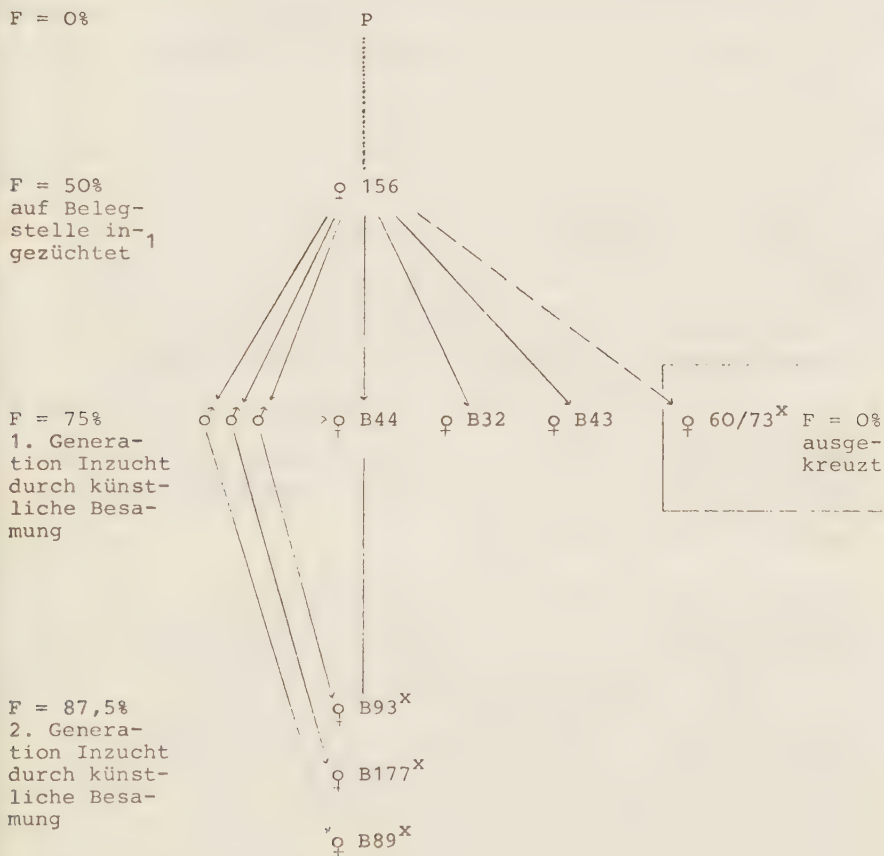


Abb. 1 Art der Inzucht und Inzuchtkoeffizient F bei den verwandten Völkern

^x Völker in den Versuchen

1 Zwischen der Generation P und 156 liegen mehrere Genera-
tionen, bei denen die Königinnen auf einer Belegstelle
durch Kreuzung mit eng verwandten Drohnen ingezüchtet
wurden, um den Inzuchtkoeffizienten F = 50% zu erreichen.

deren Königinnen sich frei gepaart hatten (Inzuchtkoeffizient=0%). Alle Versuche wurden im Frühjahr 1974 von März bis Juni im Institut für Bienenkunde in Oberursel bei Frankfurt durchgeführt.

Methode

Es wurden Temperaturmessungen in intakten Völkern sowie an Gruppen von je 50 gekäfigten Arbeiterinnen durchgeführt. Für die Messungen in den Völkern wurde ein elektronisches Messgerät (Polycomb) benutzt, an das 6 Thermoelemente angeschlossen waren. Diese konnten zu den im Freien stehenden Völkern geführt und dort so auf den Wabenrähmchen befestigt werden, daß die feinen Spitzen der Elemente in Zellen mit verdeckelter Brut eingesteckt werden konnten.

In 4 aufeinanderfolgenden Versuchsserien wurde jeweils ein Nicht-Inzuchtvolk mit einem oder zwei Inzuchtvölkern verglichen. Vor Versuchsbeginn wurden die Völker, die alle in Magazin-Beuten (Oberurseler Magazin) untergebracht waren, auf etwa gleiche Stärke gebracht, d.h. daß die gleiche Anzahl an Wabenrähmchen etwa gleich dicht besetzt war. Die Magazine wurden am Versuchsort direkt nebeneinander aufgestellt. Die Bienen konnten sich dann mehrere Stunden lang einfliegen, ehe die Thermoelemente in den Völkern befestigt wurden. Es wurde darauf geachtet, daß die Thermoelemente an sich entsprechenden Stellen in den Völkern angebracht wurden, und zwar jeweils im Zentrum des Brutnestes. Zur vergleichenden Messung der Umgebungstemperatur wurde bei jeder Versuchsserie ein Thermo-

element unmittelbar außerhalb der nebeneinanderstehenden Magazine befestigt, und zwar so, daß es sich stets im Schatten befand. Auf dem an das Meßgerät angeschlossenen Schreiber wurde ein Papiervorschub von 2 cm in der Stunde und eine Punktfolge von 12 sec eingestellt. Der statistischen Auswertung der Temperaturmessungen in den Völkern liegen Meßwerte zugrunde, die in zweistündigem Abstand über eine Zeitdauer von jeweils 24 Stunden abgelesen wurden. Es wurde allerdings erst 4 Stunden nach dem Beginn der Messungen bzw. dem Anbringen der Thermoelemente mit dem Ablesen der Daten begonnen, um etwaige Störreaktionen auszuschließen, die durch das Anbringen der Thermoelemente hätten verursacht sein können. Insgesamt wurde die Temperatur in 7 Inzucht- und 3 Nicht-Inzuchtvölkern gemessen.

Für die Versuche mit den gekäfigten Bienen wurden Waben mit verdeckelter Brut aus den Völkern entnommen, und die Bienen im Brutschrank bei 35°C zum Schlüpfen gebracht. Die jungen Arbeiterinnen wurden innerhalb der ersten Stunden nach dem Schlüpfen von der Wabe abgesammelt und zu je 50 von einem Volk in ein Plexiglaskästchen gesetzt. Dieses hatte die Innenmaße 9x6x5 cm und war nach Free verändert gebaut (Abb. 2) (Free 1958). Durch die Vorderfront konnten 2 Pipetten eingeführt werden, von denen die eine Honig, die andere Wasser enthielt; an den 3 anderen Seiten befanden sich zahlreiche Luftlöcher. Um den Bienen einen Halt zu geben, war ein 5x1 cm langes Stück Wachsmittelwand mit flüssigem Wachs an die Decke des Kästchens geklebt worden.

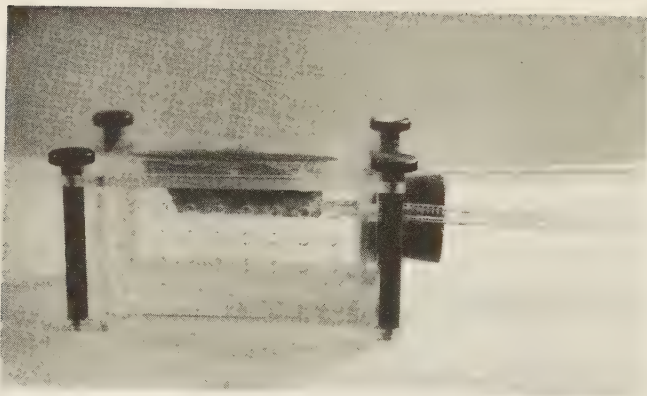


Abb. 2 Kästchen nach Free

Die Bienen wurden 9 Tage lang in diesen Kästchen im Brutschrank bei 28°C im Dauerdunkel gehalten. Diese Zeitspanne zwischen Schlüpfen der Bienen und Versuchsbeginn wurde gewählt, um die Bienen in ein Alter kommen zu lassen, in dem sie, wären sie im Volk geblieben, als Ammenbienen für das Warmhalten der Brut tätig sein würden. Während dieser Zeit sowie während der Versuche stand den Bienen Honig und Wasser in beliebiger Menge zur Verfügung. Am ersten Tag nach dem Schlüpfen erhielten die Bienen in jedem Kästchen eine Gabe von 4 g frischem Pollen. Am 10. Tag wurden die Bienen in Klimakammern der Temperaturstufen 15°C, 20°C, 22°C und 25°C gebracht, in denen gelbes Dauerlicht brannte. Die Messungen begannen nach einer Eingewöhnungszeit von einer Stunde und wurden mit einem transportablen Meßgerät (Braun Typ AAHT1) durchgeführt, das einen Stechfühler besaß (Ø 18 mm), der durch die seitlichen Luftlöcher in die Kästchen eingeführt werden konnte; mit diesem konnte jeweils die wärmste Stelle im Kästchen gemessen werden, ohne unter den Bienen größere Störungen zu verursachen. Die Versuche dauerten 3 bis 4 Tage, an denen die Temperaturen stündlich zwischen 8 und 18 Uhr in allen Kästchen gemessen wurde. Die Umgebungstemperatur wurde von einem Thermometer abgelesen, das unmittelbar neben den Kästchen befestigt war.

Bei den Temperaturstufen 15°C, 20°C und 25°C wurden Arbeiterinnen eines Inzuchtvolkes (B93) und eines verwandten Nicht-Inzuchtvolkes (60/73) vergleichend gemessen, und zwar je 2 Kästchen pro Volk nebeneinander. Bei 22°C wurden verschiedene Inzucht- und Nicht-Inzuchtvolker, jeweils nur ein Kästchen pro Volk, auf ihre Temperaturregulierung hin geprüft.

Nach diesen Messungen zur Temperaturregulierung wurden die Bienen in den Kästchen für 2 Tage in einem warmen Brutschrank (28°C) gehalten und dann einem Kältestress unterworfen, der ihre Überlebensfähigkeit zeigen sollte. Die Bienen, die während der Versuche den Temperaturstufen 15° , 20° und 25°C ausgesetzt waren, wurden 48 Stunden bei 13°C gehalten, während die der Temperaturstufe 22°C für 12 Stunden bei 11°C gehalten wurden. Danach wurde die Zahl der überlebenden Bienen festgestellt. Insgesamt wurden in den Kästchenversuchen Bienen aus 9 Inzucht- und 5 Nicht-Inzuchtvölkern getestet.

Bei der statistischen Auswertung wurden alle Werte, die unter 5% Wahrscheinlichkeit liegen, als signifikant bezeichnet.

Ergebnisse

Temperaturmessungen in den Völkern

Bei den Messungen in den Völkern stellte sich heraus, daß die Nicht-Inzuchtbienen trotz unterschiedlicher Umgebungstemperaturen die Temperatur des Brutnestes stets zwischen 34°C und 35°C hielten. Da die Brutnesttemperatur relativ konstant gehalten wird, nehmen die Differenzen zwischen Brutnesttemperatur und Umgebungstemperatur mit steigender Umgebungstemperatur ab. Die größte Heizleistung der Völker in den Versuchen wurde daher bei der niedrigsten Umgebungstemperatur erbracht. Bei einer Umgebungstemperatur von im Mittel $2,2^{\circ}\text{C}$ hielt ein Nicht-Inzuchtvolk eine Temperaturdifferenz von im Mittel $32,17^{\circ}\text{C}$ aufrecht (Abb. 3).

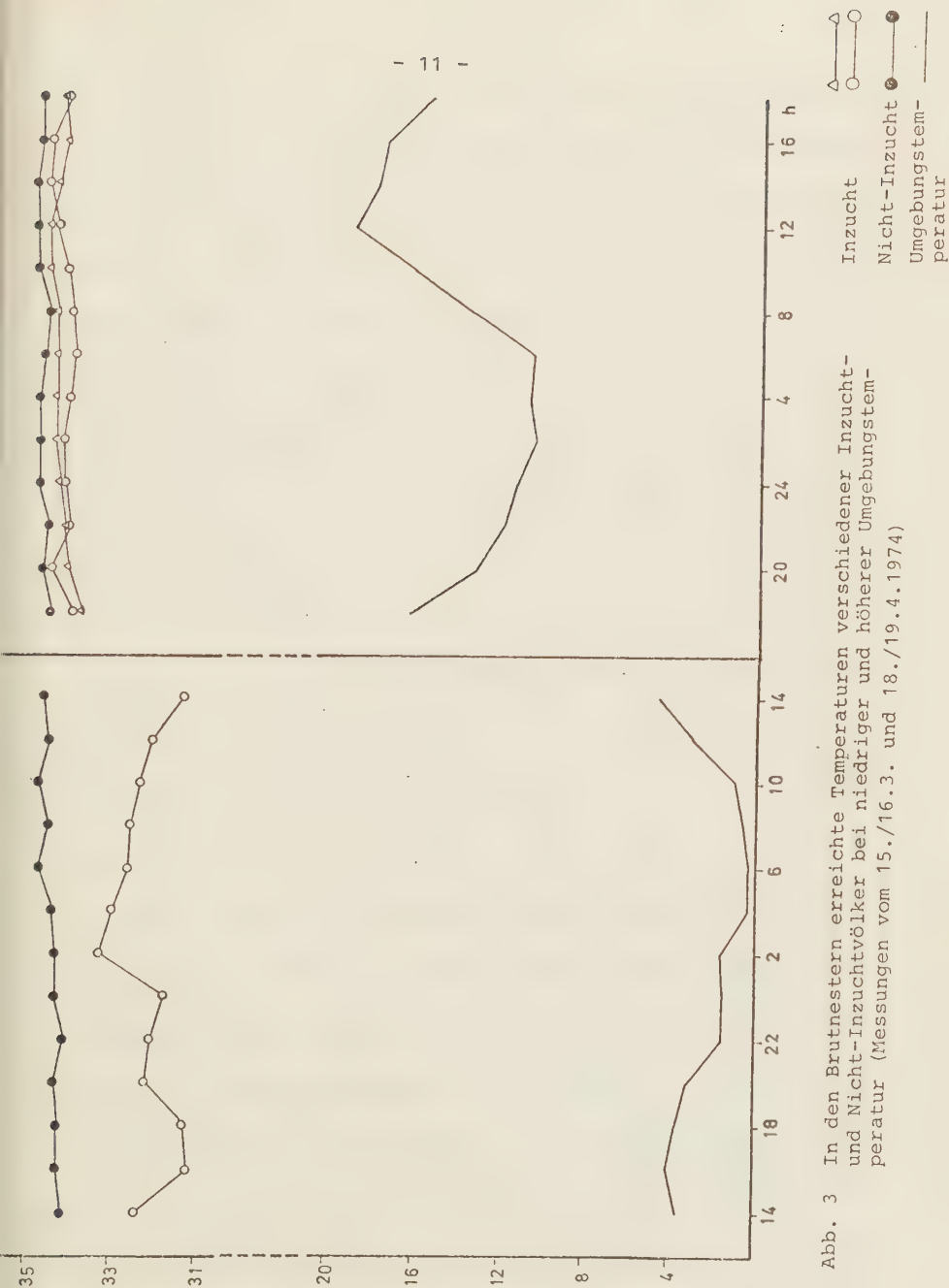


Abb. 3 In den Brutnestern erreichte Temperaturen verschiedener Inzucht- und Nicht-Inzuchtvögel bei niedriger und höherer Umgebungstemperatur (Messungen vom 15./16.3. und 18./19.4.1974)

Beim Vergleich der Brutnesttemperatur von Inzucht- und Nicht-Inzuchtvölkern stellten sich Unterschiede in der Leistung heraus. In Abb. 3 sind als Beispiel die Temperaturkurven der im Brutnest erreichten Temperaturen verschiedener Inzucht- und Nicht-Inzucht-völker am Tage der niedrigsten und am Tage der höchsten Umgebungstemperatur der Versuchsserie wiedergegeben. Bei beiden Messungen erreichen die Inzuchtvölker niedrigere Temperaturen als die Nicht-Inzucht-völker. Während von der niedrigen zur höheren Umgebungstemperatur die im Mittel erreichte Temperatur bei den Inzuchtvölkern um etwa 2°C zunimmt, ändert sich die erreichte Temperatur der Nicht-Inzucht-völker nur um Bruchteile von Graden. Die Schwankungen der erreichten Temperatur sind zudem bei den Inzuchtvölkern bei niedriger und höherer Umgebungstemperatur größer als bei den Nicht-Inzuchtvölkern. Vergleicht man die erreichten Temperaturen aller Inzucht- und Nicht-Inzucht-völker dieser Versuchsserie, so stellt sich heraus, daß die im Mittel erreichten Temperaturen der Nicht-Inzucht-völker in 6 von 7 Fällen über denen der Inzucht-völker liegen, davon in 5 Fällen signifikant, während nur in einem Fall die erreichte Temperatur der Inzucht signifikant über der der Nicht-Inzucht liegt. Vergleicht man die Varianzen der erreichten Temperaturen aller Völker in den Versuchen, so stellt sich heraus, daß die der Inzucht in 5 von 7 Fällen größer sind als die der Nicht-Inzucht, davon in 3 Fällen signifikant größer. In 2 Fällen haben die Inzucht-völker geringere Varianzen als die Nicht-Inzucht-völker, jedoch sind die Werte nicht signifikant verschieden. Stellt man die gemeinsame Varianz in der erreichten Temperatur der Inzucht-völker der gemeinsamen Varianz in der erreichten Temperatur der

Nicht-Inzuchtvölker gegenüber, so zeigt die Brutnesttemperatur der Inzuchtvölker signifikant ($p < 0,01$) mehr Fluktuationen als die der Nicht-Inzuchtvölker. Die Nicht-Inzuchtarbeiterinnen sind also in der Lage, die Brutnesttemperatur höher und stabiler zu halten als die Inzuchtarbeiterinnen.

Die im Brutnest erreichten Temperaturen der Inzuchtvölker sind mit den Werten der Umgebungstemperatur positiv korreliert ($r = 0,606$, $N = 85$, $B = r^2 = 0,367$, $p < 0,01$). Liegen die Umgebungstemperaturen höher, so liegen auch die in den Völkern erreichten Temperaturen höher (Abb. 4). Bei diesem Vergleich wird die Gruppe der Inzuchtvölker ($F = 87,5\%$) der Gruppe der Nicht-Inzuchtvölker ($F = 0\%$) gegenübergestellt. Die im Brutnest der Nicht-Inzuchtvölker erreichten Temperaturen sind nicht mit den Werten der Umgebungstemperatur korreliert. Die bei den Inzuchtvölkern in dieser Korrelation gefundene Variabilität der erreichten Temperaturen läßt sich mit 36,7% auf die Variabilität der Umgebungstemperatur zurückführen (Bestimmtheitsmaß $B = 0,367$).

Wenn man die Annahme ausschließt, daß es sich bei dem Inzuchtvolk, das bei der niedrigsten Umgebungstemperatur gemessen wurde, um ein irgendwie krankes Volk handelte, so muß man folgendes aus den Messungen in den Völkern schließen: Die starke Abhängigkeit der Inzuchtvölker von der Umgebungstemperatur bedingt, daß diese Völker im zeitigen Frühjahr bei niedrigen Umgebungstemperaturen die erforderliche Brutnesttemperatur von 34° bis 35°C nicht erreichen können und deshalb dann keine Brut aufziehen können, während die Nicht-Inzuchtvölker dazu in der Lage sind.

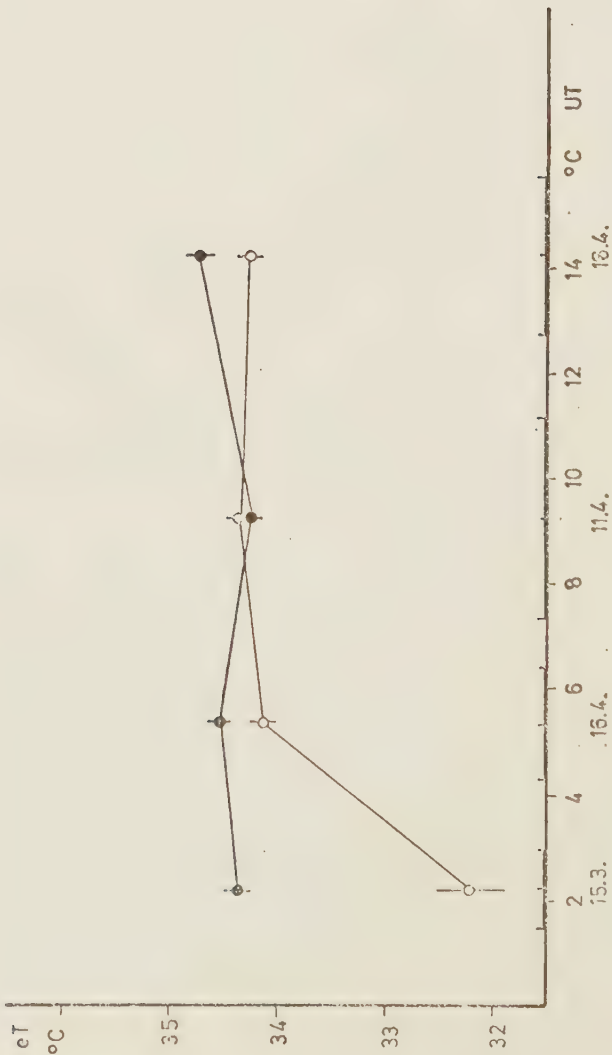


Abb. 4 Mittelwerte mit Standardabweichungen der erreichten Temperaturen (eT) in den Völkern bei steigenden Mittelwerten der Umgebungstemperatur (UT). Inzucht —●— Nicht-Inzucht —○—

Temperaturmessungen in den Kästchenversuchen

In den Kästchenversuchen wurden die Temperaturen kleiner Gruppen von Bienen außerhalb des Sozialverbandes gemessen, um die Leistung der einzelnen Individuen besser zu erfassen. Wenn die Gruppen sehr klein sind und keine Brut vorhanden ist, haben die Bienen kaum die Tendenz, eine Traube zu bilden (Free 1959). Die Traubenbildung stellt im Volk die soziale Komponente der Reaktionen auf niedrige Umgebungstemperaturen dar. Da die Traubenbildung bei den Gruppen von 50 Arbeiterinnen in den Kästchenversuchen praktisch nicht vorhanden ist, wird in diesen Versuchen die Leistung der Individuen in Bezug auf die Stoffwechselwärmeerzeugung gemessen.

Im Verhalten der Bienen wurde beobachtet, daß die Inzuchtarbeiterinnen in den Kästchenversuchen oft weniger Aktivität zeigten als die Nicht-Inzuchtarbeiterinnen.

Einige Bienengruppen hatten in der Zeit zwischen Schlüpfen und Versuchsbeginn (10 Tage) damit begonnen, das vorgegebene Stück Mittelwand an der Decke der Kästchen auszubauen (Abb. 5):

9 von 10 Gruppen von Nicht-Inzuchtarbeiterinnen hatten mit dem Wabenbau begonnen, während nur 2 von 14 Inzuchtgruppen Anfänge von Wabenbau zeigten. Die Tatsache, daß die Gruppen der Inzuchtarbeiterinnen kaum Wabenbau zeigten, könnte entweder daran liegen, daß sich bei den Inzuchtarbeiterinnen die Wachsdrüsen langsamer entwickeln als bei den Nicht-Inzuchtarbeiterinnen, oder aber daran, daß sie weniger gut als Kollektiv geordnet zu arbeiten in der Lage sind.

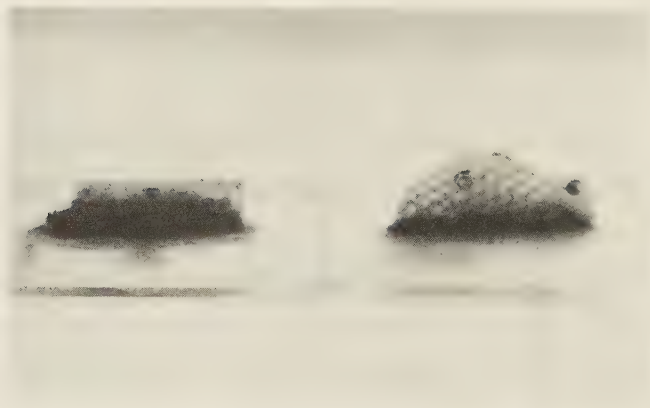


Abb. 5 Vorgegebenes Stück der Mittelwand (links)
und Anfänge von Wabenbau (rechts).

Bei den Temperaturmessungen in den Kästchen erreichten die Arbeiterinnen in den verschiedenen Temperaturstufen nie Temperaturen von 34° bis 35°C , wie sie im Brutnest der Völker erreicht wurden. Jedoch zeigte sich auch in den Kästchenversuchen die außerordentlich große Heizleistung der Bienen. So waren 50 Arbeiterinnen in der Lage, eine Umgebungstemperatur von 15°C über 12 Stunden um etwa 10°C aufzuheizen (Abb. 6). In Abb. 6, 7 und 8 sind als Beispiel die erreichten Temperaturen von Arbeiterinnen eines Inzucht- und eines Nicht-Inzuchtvolkes bei Umgebungstemperaturen von 15° , 20° und 25°C wiedergegeben. Im Vergleich zwischen Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen stellt sich heraus, daß die Nicht-Inzuchtarbeiterinnen höhere Temperaturen erreichen als die Inzuchtarbeiterinnen. Diese Unterschiede sind bei 20° und 25°C signifikant, während sie bei 15°C nicht signifikant sind.

Vergleicht man die im Mittel erreichten Temperaturen von Inzuchtarbeiterinnen und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen der gesamten Versuchsserie, so liegen die der Nicht-Inzuchtarbeiterinnen in 10 von 14 Fällen über denen der Inzuchtarbeiterinnen; der Unterschied ist in 7 Fällen signifikant. In 2 Fällen sind die erreichten Temperaturen von Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen gleich; in 2 Fällen erreichen die Inzuchtarbeiterinnen höhere Temperaturen, jedoch sind die Unterschiede nicht signifikant. Berechnet man den Unterschied in der erreichten Temperatur von Inzucht und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen für alle Kästchenversuche, so liegen die Werte der Nicht-Inzucht im Mittel um $+0,72^{\circ}\text{C}$ über denen der Inzucht ($p < 0,05$).

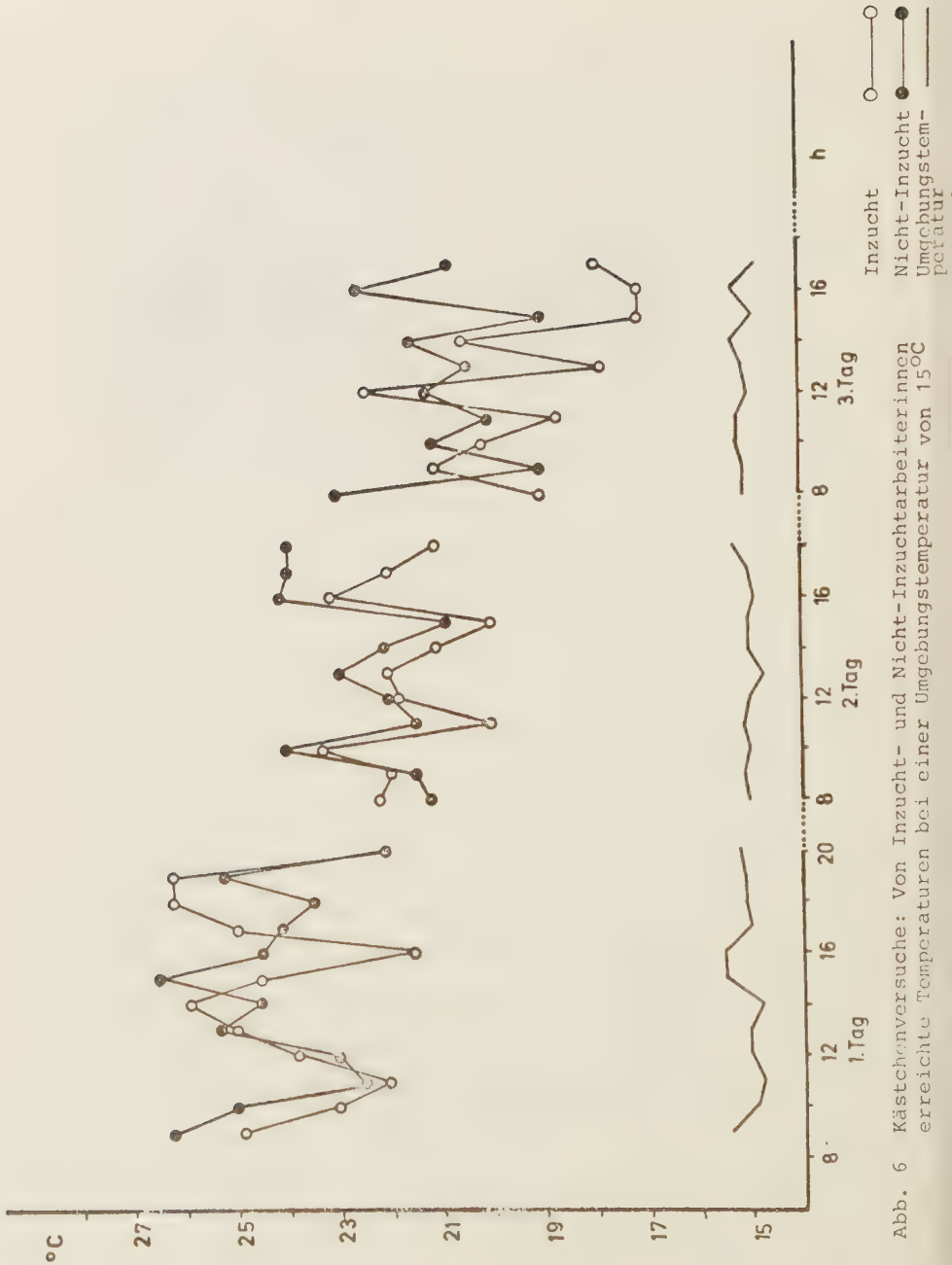


Abb. 6 Kästchenversuche: Von Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen erreichte Temperaturen bei einer Umgebungstemperatur von 15°C

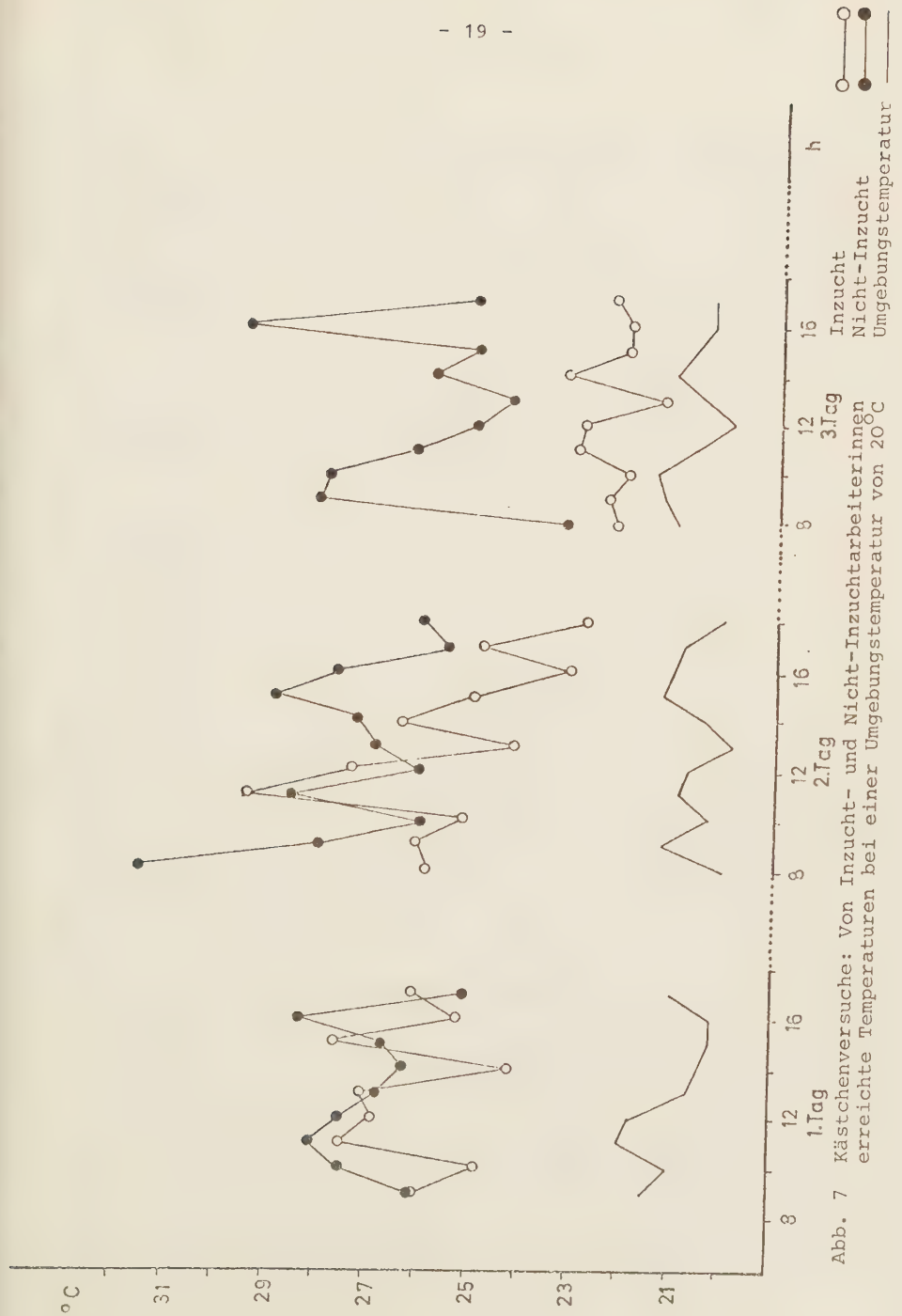


Abb. 7 Kästchenversuche: Von Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen erreichte Temperaturen bei einer Umgebungstemperatur von 20°C

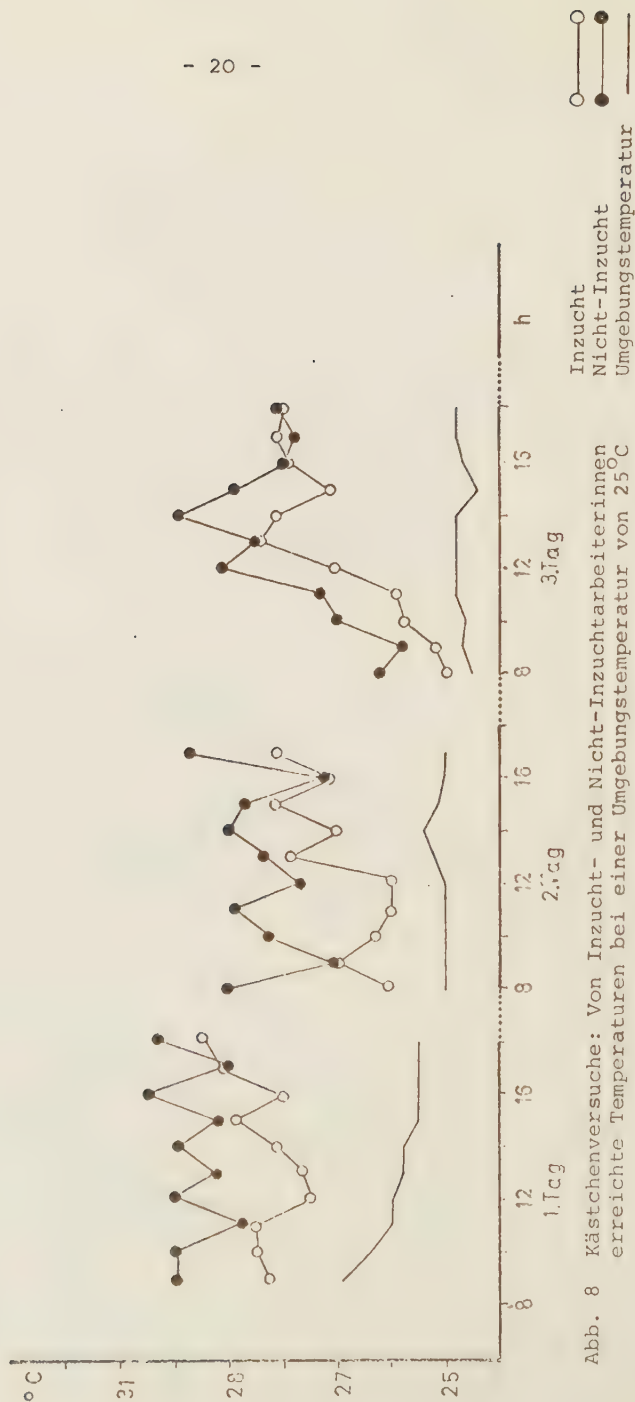


Abb. 8 Kästchenversuche: Von Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen erreichte Temperaturen bei einer Umgebungstemperatur von 25°C

Die auftretenden Schwankungen der erreichten Temperaturen sind in den Kästchenversuchen im allgemeinen größer als bei den Messungen im Brutnest (vergl. Abb. 6, 7 und 8 mit Abb. 3); zwischen Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen besteht kein signifikanter Unterschied in der Größe dieser Schwankungen. Die Tatsache, daß die erreichten Temperaturen in den Kästchen große Schwankungen aufweisen, ist damit zu erklären, daß die Traubenbildung in den Kästchen nicht zur Wirkung kommen kann. Diese ist im Volk der Hauptfaktor für das Stabilhalten der erreichten Temperaturen.

Die in den Kästchenversuchen von den Arbeiterinnen erreichten Temperaturen sind negativ mit der Zeit korreliert, das heißt, daß die Heizleistung der Bienen in allen Temperaturstufen mit der Zeit abnimmt. Vergleicht man die Werte der Messungen bei 15°C , 20°C und 25°C , bei denen jeweils Arbeiterinnen des gleichen Inzucht- und Nicht-Inzuchtvolkes vergleichend gemessen wurden, so stellt sich heraus, daß bei Arbeiterinnen beider Völker die Abnahme der erreichten Temperatur mit der Zeit mit zunehmender Umgebungstemperatur geringer wird. In Abb.9 wurden die Regressionskoeffizienten (b), die die Steilheit des Temperaturabfalls der erreichten Temperaturen in den Kästchen mit der Zeit angeben, gegen die Umgebungstemperatur aufgetragen. Es zeigte sich, daß die Abnahme der erreichten Temperatur mit der Zeit bei den Inzuchtbienen in allen Temperaturstufen größer war als bei den Nicht-Inzuchtbienen. Der Trend zur Abnahme der erreichten Temperaturen wird zweifellos durch den Streß hervorgerufen, den die gewählten Temperaturstufen für die kleinen Gruppen von Bienen bedeuten; der Streß ist bei 15°C natürlich am stärksten, daher ist der Abfall bei dieser Temperatur am steilsten.

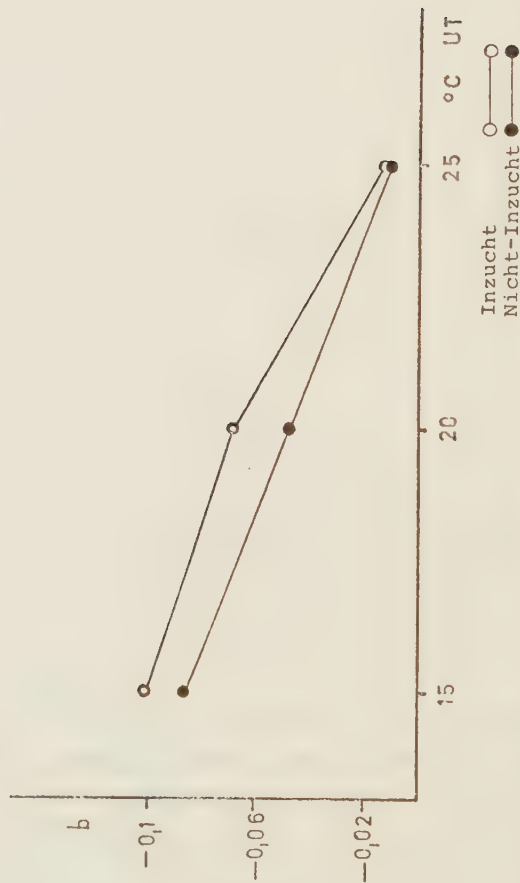


Abb. 9 Kästchenversuche: Abnehmen der Regressionskoeffizienten b (die die Steilheit des Temperaturabfalls der erreichten Temperatur in den Kästchen mit der Zeit angeben) bei Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen mit steigender Umgebungstemperatur ($^{\circ}\text{C}$)

Bei den Messungen in den 3 verschiedenen Temperaturstufen, 15°C, 20°C und 25°C, in denen eng verwandte Inzucht und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen verglichen wurden, zeigte sich außerdem, daß die Mittelwerte der erreichten Temperaturen bei beiden Gruppen mit steigender Umgebungstemperatur zunehmen (Abb. 10). Dabei besteht bei 15°C kein signifikanter Unterschied zwischen Inzucht- und Nicht-Inzuchtbienen, während bei 20°C und 25°C die Nicht-Inzucht signifikant höhere Werte erreicht. Vergleicht man aber die Differenzen zwischen Umgebungstemperatur und erreichter Temperatur, so nehmen diese mit steigender Umgebungstemperatur bei beiden Gruppen signifikant ($p < 0,01$) ab. In Abb. 10 entspricht der senkrechte Abstand zwischen den Kurven und der Diagonalen diesen Differenzen. Diese Ergebnisse entsprechen den bei den Messungen im Brutnest der Völker gefundenen Ergebnissen, allerdings sind die im Brutnest der Nicht-Inzuchtvölker erreichten Temperaturen nicht von der Umgebungstemperatur abhängig; als Volk besitzen die Nicht-Inzuchtarbeiterinnen genügend Kapazität, um trotz starker Schwankungen in der Umgebungstemperatur die Brutnesttemperatur relativ konstant zu halten.

Versuche zum Kältestress

Nach den Versuchen zur Heizleistung von kleinen Gruppen von Arbeiterinnen in den Kästchen, wurde die Überlebensfähigkeit der Tiere im Kältestress untersucht. Die Kästchen waren während der Stressversuche paarweise angeordnet; es wurden jeweils die Tiere der Kästchen verglichen, die in den Versuchen gleichen Bedingungen ausgesetzt waren. In Tabelle 1 sind die Verluste an Arbeiterinnen

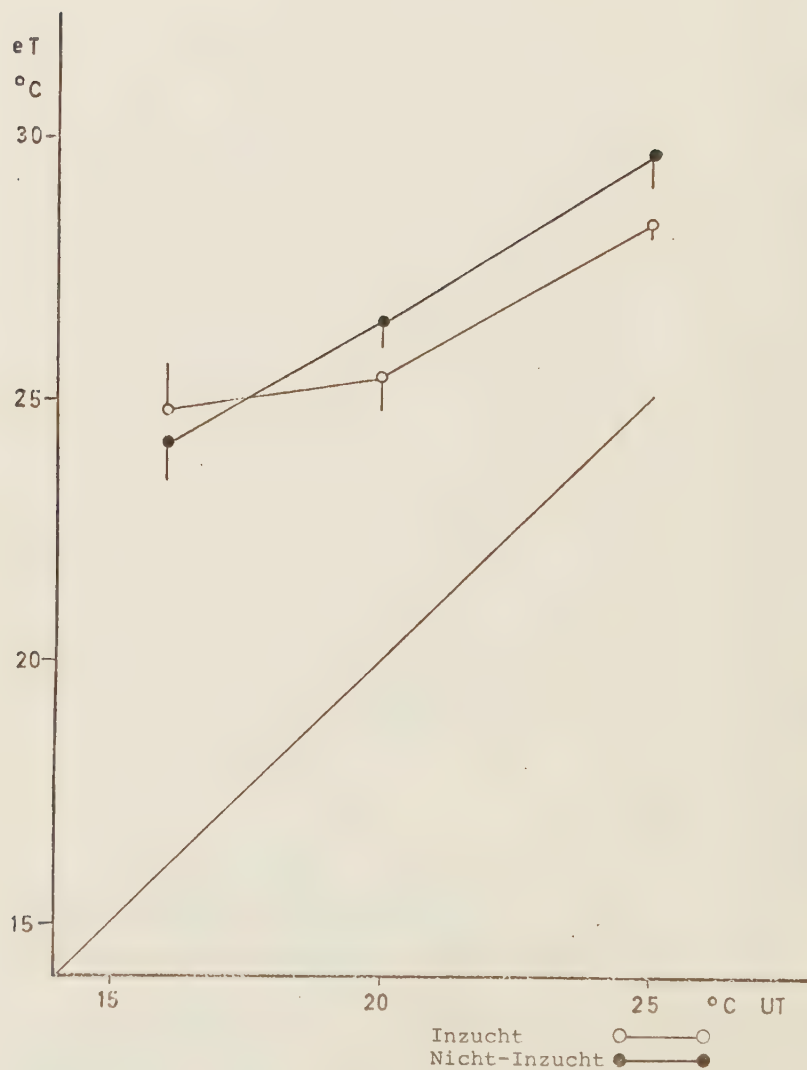


Abb. 10 Kästchenversuche: Mittelwerte und Standardabweichungen der von Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen erreichten Temperaturen (eT) bei steigender Umgebungstemperatur (UT).

UT/ST	INZUCHT		NICHT-INZUCHT		$\triangle$
	Volk	Tote n. Stress	Volk	Tote n. Stress	
15/13	B93	74%	60/73	18%	+56%
15/13	B93	24%	60/73	16%	+ 8%
20/13	B93	88%	60/73	8%	+80%
20/13	B93	82%	60/73	52%	+30%
25/13	B93	40%	60/73	8%	+32%
25/13	B93	60%	60/73	4%	+56%
22/11	7-52	48%	M53	12%	+36%
22/11	M52	48%	M125	36%	+12%
22/11	7-46	14%	M103	12%	+ 2%
22/11	5-26	52%	M119	14%	+38%

Tab. 1 Vergleich der Überlebensfähigkeit von Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen im Kältestress;

UT/ST = Umgebungstemperatur während der Versuche /
Stresstemperatur (in °C)

$\triangle$ = Differenz der Toten nach dem Stress zwischen
Inzucht- und Nicht-Inzuchtarbeiterinnen in %

wiedergegeben. Es stellte sich heraus, daß in allen Fällen weniger Inzucht- als Nicht-Inzuchtbienen überlebten.

Diskussion

Wie in der Einleitung erläutert, sind mehrere Mechanismen an der Temperaturregulierung im Bienenvolk beteiligt. Meine Versuchsanordnung war so gewählt, daß nur die durch Kälte hervorgerufenen Reaktionen getestet wurden, denn die Temperatur in den Völkern wurde im zeitigen Frühjahr bei niedrigen Außentemperaturen gemessen und die Temperaturstufen der Kästchenversuche lagen zwischen 15°C und 25°C. Bei den Kästchenversuchen steht der Mechanismus der Stoffwechselwärmeabgabe zur Temperaturregulierung im Vordergrund, da die Traubenbildung bei so kleinen Gruppen von Bienen nur eine untergeordnete Rolle spielt. Bei der Temperaturregulierung im Volk kommt sowohl die Traubenbildung als auch die Stoffwechselwärmeerzeugung zur Wirkung; über die Traubenbildung lassen sich jedoch auch im Volk nur indirekte Aussagen machen, da die Temperatur nur im Zentrum des Brutnestes gemessen wurde. Um die Traubenbildung direkt zu erfassen, hätte man mit zahlreichen Thermoelementen an allen Waben eines Volkes messen müssen; dies lag jedoch nicht im Bereich des Möglichen.

Die Ergebnisse der Messungen in den Völkern zeigen, daß die Nicht-Inzuchtbienen den Inzuchtbienen in ihrer Fähigkeit, die Temperatur zu regulieren überlegen sind. Sie erreichen im Mittel signifikant höhere Werte und können diese auch stabiler halten. Da die

Traubenbildung bei der Stabilhaltung der Temperatur eine große Rolle spielt, deuten die Ergebnisse darauf hin, daß der Mechanismus der Traubenbildung in Nicht-Inzuchtvlkern effektiver funktioniert als in Inzuchtvlkern. Zudem konnte bei den Inzuchtvlkern eine Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur nachgewiesen werden, während die Nicht-Inzuchtvlker keine Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur zeigten. Dies wird auch durch die Ergebnisse der Kästchenversuche bei 15°C, 20°C und 25°C bestätigt, in denen zumindest bei 20°C und 25°C die Nicht-Inzuchtarbeiterinnen eine signifikant höhere Heizleistung erbringen als die Inzuchtarbeiterinnen. In den Kästchenversuchen wird die Stoffwechselwärmeerzeugung gemessen; diese ist die vom Individuum abhängige Komponente der Temperaturregulierung. Die Ergebnisse zeigen, daß die Inzuchtbienen den Nicht-Inzuchtbienen in der Stoffwechselwärmeerzeugung unterlegen sind.

Die Unterschiede, die in der Fähigkeit der Temperaturregulierung zwischen Inzucht- und Nicht-Inzuchtbienen gefunden wurden, müssen durch die Unterschiede in der genetischen Variabilität der Tiere bedingt sein. Dies geht besonders deutlich aus der Tatsache hervor, daß eng verwandte ingezüchtete und nicht-ingezüchtete Völker signifikante Unterschiede in ihrer Fähigkeit zur Temperaturregulierung aufweisen. Es könnte nun argumentiert werden, daß bei den Inzuchtarbeiterinnen neben einem Mangel an Regulierfähigkeit eine Verschiebung des Sollwertes für die Temperatur, die aufgeheizt werden soll, vorliegt. Folgende Ergebnisse sprechen jedoch mehr für eine geringere Regulierfähigkeit als für einen verschobenen Sollwert bei den Inzuchtarbeiterinnen:

1. Bei den Messungen im Volk erreichten die Inzuchtbienen bei niedrigster Umgebungstemperatur auch die niedrigste Temperatur im Volk, während bei höherer Umgebungstemperatur auch höhere Temperaturen im Volk erreicht wurden. Die Nicht-Inzuchtvölker erreichten demgegenüber unabhängig von der Umgebungstemperatur immer etwa gleich hohe Temperaturen; sie konnten die erreichten Temperaturen auch stabiler halten als die Inzuchtvölker. Wäre der Sollwert bei der Inzucht verstellt, so würde man auch bei ihnen gleichbleibende Brutnesttemperaturen erwarten und es dürfte keine Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur auftreten.
2. In den Streßversuchen, bei denen es für die Bienen darum ging, genügend Wärme zu erzeugen, um die schlechten Umweltbedingungen zu überstehen, starben immer mehr Inzucht- als Nicht-Inzuchtbienen. Die Streßtemperaturen lagen so niedrig, daß es für die Bienen nur um das Überleben gehen konnte, nicht aber darum, einen erwünschten Sollwert einzustellen. Die Nicht-Inzuchtarbeiterinnen waren offensichtlich in der Lage, eine bessere Heizleistung zu erbringen als die Inzuchtarbeiterinnen.
3. Bei den Kästchenversuchen konnte beobachtet werden, daß die Inzuchttiere oft weniger aktiv waren als die Nicht-Inzuchttiere; wahrscheinlich bedeutet mehr Aktivität auch mehr Wärmeabgabe.

Diese Argumente sprechen dafür, daß die schlechtere Temperaturregulierung der Inzuchtbienen auf eine schlechtere Regulierfähigkeit zurückzuführen ist. Eine Verschiebung des Sollwerts bei der Inzucht erscheint demnach unwahrscheinlich, kann aber mit den vorliegenden Daten nicht ausgeschlossen werden. Um herauszu-

finden, ob der Sollwert der Inzuchtarbeiterinnen niedriger liegt, müßte man nicht nur Versuche bei niedriger sondern auch bei hoher Umgebungstemperatur machen. Bei verschobenem Sollwert müßten die Inzuchtarbeiterinnen die Brutnesttemperatur bei niedrigen und hohen Umgebungstemperaturen auf ein niedrigeres Niveau einregulieren als die Nicht-Inzuchtarbeiterinnen.

Die schlechtere Regulierfähigkeit der Inzuchtarbeiterinnen muß auf einer geringeren Leistungsfähigkeit der Individuen bezüglich der Erzeugung von Stoffwechselwärme beruhen, sowie auf einer weniger effektiven Traubenbildung des Kollektivs aller Bienen. Das Homozygotwerden vieler Loci im Genom bedeutet für das Volk also einen Verlust an Pufferungskapazität gegenüber störenden Umwelteinflüssen.

Die Temperaturregulierung ist für die Bienenvölker zweifellos ein lebenswichtiger Faktor. Ohne Temperaturregulierung könnte kein Volk die kalten Winter unserer Breiten überleben, und würde die Brutnesttemperatur trotz der Schwankungen der Umgebungstemperatur nicht bei etwa 35°C gehalten, so wäre die Entwicklung der Larven sehr gefährdet. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß der Heterozygotiegrad der Arbeiterinnen einen erheblichen Einfluß auf das Merkmal der Temperaturregulierung besitzt. Es konnte damit ein quantitativ meßbares Merkmal gefunden werden, in dem die Inzuchtbienen den Nicht-Inzuchtbienen unterlegen sind. Bei früheren Untersuchungen zur Entwicklungshomeostasis konnte nachgewiesen werden, daß ingezüchtete Bienen auch in morphogenetischen Merkmalen eine weniger gute Regulierfähigkeit besitzen als nicht-ingezüchtete

Bienen (Brückner 1973b, 1974). Die Verringerung der genetischen Variabilität wirkt sich bei den Arbeiterinnen also auf die Loci aus, die für die physiologische Homeostasis und die Entwicklungshomeostasis der Individuen von Bedeutung sind. Es wäre jedoch denkbar, daß nicht alle Loci der Arbeiterinnen bei Homozygotwerden eine verminderte Merkmalsausprägung verursachen, da im haplo-diploiden System der Honigbiene zumindest zeitweilig ein Teil der Population aus hemizygoten Drohnen besteht. Diese besitzen nur den halben Chromosomensatz und haben daher, verglichen mit den heterozygoten Arbeiterinnen, eine erheblich reduzierte genetische Variabilität; dennoch müssen es intakte Organismen sein. Zwar verhalten sich Drohnen passiv bei den Arbeiten im Stock, so auch bei der Temperaturregulierung, jedoch müssen sie funktionstüchtige Individuen zum Beispiel beim Flug zu den Drohnensammelplätzen und bei der Begattung der Königin sein. Die Fähigkeit zur Regulierung der Temperatur ist an die Heterozygotie der Individuen gebunden, es handelt sich jedoch um ein Merkmal, für das keine Selektion bei den Drohnen besteht. Wie verhält es sich aber mit Merkmalen, die bei Arbeiterinnen und Drohnen unter Selektionsdruck stehen, so z.B. die Augengröße oder die Körpergröße? Es wäre interessant festzustellen, ob sich die Ausbildung solcher Merkmale bei Inzucht-Arbeiterinnen im Vergleich mit normal heterozygoten Arbeiterinnen in Richtung auf die der Drohnen verschiebt, ob z. B. die Augengröße der Arbeiterinnen mit hohem Homozygotiegrad zunimmt.

Was die Auswirkungen der Inzucht auf das Temperaturregulierungsvermögen der Arbeiterinnen betrifft, so wird deutlich, daß Inzucht von der Honigbiene vermieden werden muß, um für das Volk lebenswichtige Fähigkeiten bei den Arbeiterinnen zu erhalten. Im Laufe der Evolution bildeten sich daher Verhaltensweisen aus, die Inzucht verhindern, indem die Fremdbesamung der Königin unter natürlichen Bedingungen sichergestellt wurde.

Zusammenfassung

Bei Inzucht- und Nicht-Inzuchtvölkern der Honigbiene (*Apis mellifica*) wurde das Temperaturregulierungsvermögen vergleichend untersucht, um festzustellen, ob die genetische Variabilität der Biene einen Einfluß auf dieses Merkmal besitzt. Alle untersuchten Inzuchtvölker waren durch künstliche Besamung in der 2. Generation ingezüchtet (Inzuchtkoeffizient = 87,5%). Es wurden Messungen an intakten Völkern im Freien sowie an Gruppen von je 50 gekäfigten Arbeiterinnen bei 15°C, 20°C, 22°C und 25°C durchgeführt. Insgesamt wurden 14 Inzucht- und 9 Nicht-Inzuchtvölker getestet.

Es konnte gezeigt werden, daß normal heterozygote Arbeiterinnen verwandten und nicht-verwandten Arbeiterinnen mit hohem Homozygotiegrad in ihrer Fähigkeit zur Temperaturregulierung überlegen sind. Die Nicht-Inzuchtbienen erreichen signifikant höhere Temperaturen als die Inzuchtbienen und können diese im Volk stabiler halten. Außerdem konnte gezeigt werden, daß die Überlebenschance der Nicht-Inzuchtbienen im Kältestreß größer ist als die der Inzuchtbienen. Die schlechtere Temperatur-

regulierung der Inzuchtarbeiterinnen wird darauf zurückgeführt, daß die Reduktion der genetischen Variabilität das innere Gleichgewicht (physiologische Homeostasis) der Tiere so stört, daß die Mechanismen der Temperaturregulierung nicht mehr wie bei normal heterozygoten Tieren funktionieren. Von den Inzuchtarbeiterinnen wird zum Beispiel unter gleichen Bedingungen weniger Stoffwechselwärme erzeugt als von den Nicht-Inzuchtarbeiterinnen. Es wird diskutiert, ob neben einer schlechten Regulierfähigkeit auch eine Verschiebung des Sollwerts bei den Inzuchtarbeiterinnen vorliegen könnte.

Eine gute Temperaturregulierung ist für die Völker der Honigbiene lebensnotwendig; Inzucht bedingt eine Verschlechterung dieses Merkmals, dies muß mit ein Grund dafür sein, daß Inzucht unter natürlichen Bedingungen bei der Honigbiene nicht vorkommt.

Abstract

The thermoregulation of inbred and non-inbred colonies of the honeybee (*Apis mellifica*) was compared. This trait - a measure of physiological homeostasis - was chosen to determine if homeostatic abilities are bound to heterozygosity in haplo-diploid systems. All inbred colonies had been inbred by artificial insemination in the second generation (Inbreeding coefficients = 87.5%). Only the reaction to low environmental temperatures was determined in the experiments. The broodnest temperatures of colonies outdoors were measured in early spring and the temperatures reached by groups of 50 workers were measured, which were kept in cages at environmental temperatures of 15°C, 20°C, 22°C and 25°C. A total of 14 inbred and 9 non-inbred colonies was tested.

Normally heterozygous workers were superior in their thermoregulation compared to related and unrelated highly homozygous workers: they reached significantly higher temperatures in the broodnest and were able to keep the temperatures more stable. In the experiments with the small groups of workers it was found that normally heterozygous workers produced more metabolic heat than highly homozygous workers. It was also found that the survival rate under coldstress was greater in non-inbred than in inbred workers. It is concluded that the poorer thermoregulation of the inbred colonies is due to their high degree of homozygosity which must affect the loci that are involved in thermoregulation. Thus this trait of homeostasis is bound to heterozygosity in the haplo-diploid system of the honeybee. The question is discussed whether there is a change in nominal value in the inbred bees besides the poorer abilities to regulate the temperature.

Literaturverzeichnis

- Brückner D., 1973a. Reduction of biochemical polymorphisms in honeybees (*Apis mellifica*). *Experientia*, 30, 618-619.
- 1973b. Homeostasis in honeybees (*Apis m. carnica*). *Die Naturwiss.*, 60, 9, 433-434.
- 1974. The influence of genetic variability on wing symmetry in honeybees (*Apis mellifica*). in preparation.
- Drescher W., 1969. in: Die instrumentelle Besamung der Bienenkönigin. Herausg. F. Ruttner, Apimondia, 58-61.
- Free J.B. and Spencer-Booth Y., 1958. Observations on the temperatureregulation and food consumption of honeybees (*Apis mellifera*). *Jour. of Experim. Biol.*, 35, 4, 930-937.
- 1959. Temperature regulation by honeybees. *Bee World*, 40, 7, 173-177.
- Gates B.N., 1914. The temperature of the bee colony. *Bull. U.S. Dep. Agric.*, 96, 1-29.
- Himmer A., 1932. Die Temperaturverhältnisse bei den sozialen Hymenopteren. *Biol. Rev.*, 7, 224-253.
- Lerner I.M., 1954. Genetic Homeostasis. New York, John Wiley.
- Lewontin R.C., 1956. Studies on homeostasis and heterozygosity. I. General considerations. Abdominal bristle. Number in second chromosome homozygotes of *Drosophila melanogaster*. *Am Nat.*, 90, 853, 237-255.
- Lindauer M., 1954. Temperaturregulierung und Wasserhaushalt im Bienenstaat. *Z. vergl. Physiol.*, 36, 391-432.
- Mackensen O., 1951. Viability and sex-determination in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Genetics* 36, 5, 500-509.
- Wilson E.O., 1971. The Insect Societies. Belknap Press, Cambridge Mass., chapter 16.
- Woyke J., 1965. Genetic proof of the origin of drones from fertilized eggs of the honeybee. *J. Apic. Res.*, 4, 1, 7-11.

Lebenslauf

Am 6.12.1948 wurde ich in Kempten geboren. Meine Schulzeit verbrachte ich in Wiedenbrück/Westfalen; dort machte ich im Juni 1967 das Abitur am Städtischen Gymnasium. Mit dem Wintersemester 67/68 begann ich das Studium der Biologie an der Universität in Kiel; nach 2 Semestern setzte ich es an der Universität in Tübingen fort, wo ich am 29. Juli 1969 das Vordiplom erhielt. Danach setzte ich das Studium an der Universität in Bonn fort, wo ich mich um ein Fulbright- und Direct-Exchange Stipendium für die USA bewarb. Vom Herbstsemester 1970 an studierte ich an der University of Kansas in Lawrence/Kansas. Dort erhielt ich am 11. Oktober 1971 den Titel eines Master of Arts in Biologie. Seit dem Wintersemester 71/72 arbeite ich im Zoologischen Institut der Universität München an meiner Dissertation unter Leitung von Professor Jacobs; seit dem 1. November 1974 bin ich Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle am Zoologischen Institut in München.

